

Aus der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent J. Wiltfang)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**HEMMUNG DER VORZEITIGEN RESORPTION VON
KNOCHENTRANSPLANTATEN BEI KIEFERKAMMAUGMENTATION
DURCH DIE LOKALE ANWENDUNG VON
BISPHOSPHONAT AUF VERSCHIEDENEN TRÄGERMATERIALIEN**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Anna Tulowitzki
aus Perwouralsk, Russland

Kiel 2010

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. Wiltfang
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Grössner-Schreiber
Tag der mündlichen Prüfung:	13.10.2011
Zum Druck genehmigt, Kiel, den	13.10.2011
gez.	Prof. Dr. Dr. I. Cascorbi

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	S. 1
1.1	Klinisches Problem der Augmentation	S. 1
1.2	Physiologische Einheilung von autologen Knochentransplantaten	S. 3
1.3	Mechanischer Resorptionsschutz.....	S. 4
1.3.1	Periostabdeckung.....	S. 4
1.3.2	Membranen.....	S. 4
1.3.3	Knochenersatzmaterial.....	S. 5
1.4	Bisphosphonate.....	S. 6
1.4.1	Therapeutischer Einsatz	S. 6
1.4.2	Pharmakologie.....	S. 6
1.4.3	Wirkung im Gewebe.....	S. 7
1.4.4	Wirkung in den Zellen.....	S. 8
1.4.5	Wirkung im molekularen Bereich.....	S. 10
1.4.6	Nebenwirkungen von Bisphosphonaten.....	S. 11
1.4.6.1	Allgemeine Nebenwirkungen.....	S. 11
1.4.6.2	Bisphosphonat-assoziierte Osteochemonekrose.....	S. 11
1.5	Studiendesign, Hypothese und Zielsetzung dieser Studie.....	S. 12
2	Material und Methoden.....	S. 14
2.1	Tierpopulation und Tierhaltungsbedingungen.....	S. 14
2.2	Tierversuchsgenehmigung	S. 14
2.3	Narkose und Medikamente	S. 14
2.4	Operative Vorgehensweise und Materialien.....	S. 15
2.5	Intravitale polychrome Sequenzmarkierung.....	S. 17
2.6	Herstellung der Präparate und mikroskopische Auswertung	S. 17
2.6.1	Herstellung der Präparate.....	S. 17

2.6.2	Mikroradiographie.....	S. 19
2.6.3	Fluoreszenzmikroskopie.....	S. 19
2.6.4	Toluidinblaufärbung	S. 19
2.6.5	Histomorphometrie und mikroskopische Auswertung.....	S. 20
2.6.6	Statistik.....	S. 20
3	Ergebnisse.....	S. 21
3.1	Knochenresorption.....	S. 22
3.2	Osseointegration der Osteosyntheseschrauben.....	S. 27
3.3	Knochenremodeling und interner Knochenumbau.....	S. 31
4	Diskussion	S. 34
5	Zusammenfassung	S. 39
6	Literaturverzeichnis.....	S. 41
7	Anhang.....	S. 49
7.1	Knochenresorption.....	S. 49
7.2	Osseointegration.....	S. 54
7.3	Knochenremodeling	S. 59
8	Danksagung	S. 67

Abkürzungsverzeichnis:

Abb.	Abbildung
BP	Bisphosphonat Alendronat Fosamax®
i.v.	intravenös
KEM	Bio-Oss®, xenogenes Knochenersatzmaterial
Kn-S-Kontakt	Transplantat-Implantat-Kontakt
Membran, Mem	Bio-Gide®, xenogene Kollagenmembran
Stand.Abw.	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
Tx	Knochentransplantat

1 Einleitung

1.1 Klinisches Problem der Augmentation

In der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie sind Knochentransplantate häufig erforderlich; es gibt zahlreiche Indikationen, wie bei tumorbedingten (z.B. Unterkieferresektionen), angeborenen (Lippen-, Kiefer- Gaumenspalten, Unterkieferhypoplasien) oder traumatischen Defekten (Teilverluste, Pseudoarthrosen), Entzündungen (z.B. Osteomyelitis, Parodontitis) oder auch altersbedingten Atrophien (z.B. Präprothetische Chirurgie, Implantationen).

Die Augmentation mit autologem Knochen ist eine teilweise unerlässliche und längst akzeptierte Behandlungsmethode zur Erhöhung des Kieferkammes nach Inaktivitätsatrophie oder anders entstandenen Defekten. Nachteilig ist hierbei die bei solchen Transplantaten schwer kontrollierbare und nicht vorhersagbare Oberflächenresorption. Sie kann zu Konturungleichmäßigkeiten, Höhenverlust des Transplantates oder auch zum Misserfolg des Knochenaufbaus führen. Besonders im sichtbaren Bereich birgt sie funktionelle und ästhetische Probleme (Abb.1).(1–4)

Gleichzeitig ist aber die innere Resorption durch Osteoklasten für das Knochenremodeling und die Integration des Transplantates erwünscht und unerlässlich. Dieses nimmt am Skeletumbau teil und wird sukzessive durch körpereigenen Knochen ersetzt. Dieser Prozess ist bekannt als „schleichender Ersatz“ (*creeping substitution*).(5; 6)

Zur Hemmung der osteoklastären Resorption an der Transplantatoberfläche werden verschiedene mechanische Maßnahmen wie der Einsatz von Membranen, Knochenersatzmaterialien, periostbedeckte Transplantate sowie Knochentransplantate großer Härte wie Schädel oder Linea obliqua diskutiert. Aspenberg und Astrand veröffentlichten 2002(7) erstmalig eine Studie zur Hemmung der Oberflächenresorption von Transplantaten durch lokale Applikation von Bisphosphonaten, auf die später noch ausführlicher eingegangen werden soll.

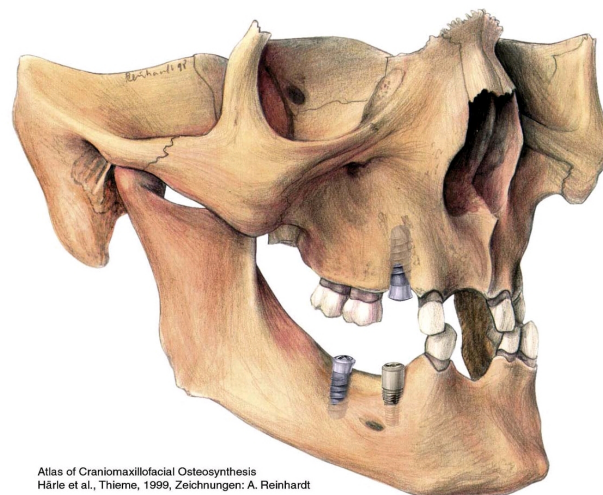
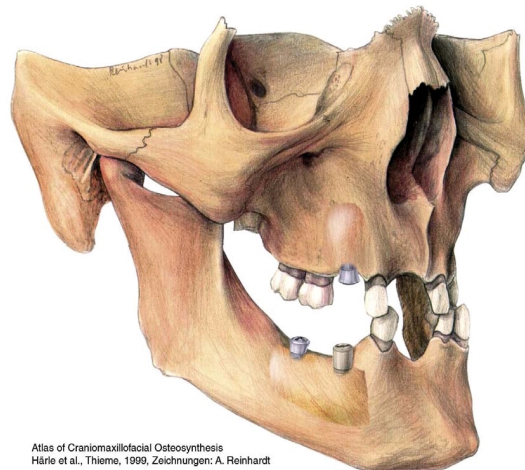
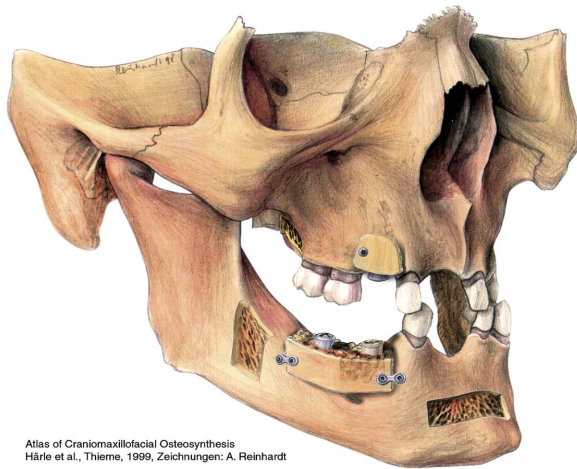


Abbildung 1: Darstellung von Oberflächenresorption eines Knochentransplantats nach Kieferkammaugmentation. Modifiziert nach dem "Atlas of Craniomaxillofacial Osteosynthesis" (Härle et al., Thieme, 1999), Zeichnungen: A. Reinhardt

1.2 Physiologische Einheilung von autologen Knochentransplantaten

Autologer Knochen gilt nach wie vor als Goldstandard bei der Rekonstruktion knöcherner Defekte. Avaskuläre autogene Transplantate können knöchern in einen knöchernen Empfängerdefekt einheilen, sie bleiben aufgrund ihrer zellulären (Ischämietoleranz der Stammzellen) und morphogenetischen (Freisetzung von BMPs - *bone morphogenetic protein*) Wirkung osteoinduktiv. Die avaskuläre Knochengrundsubstanz dient als osteokonduktive Matrix für das Remodeling des Transplantates, das dadurch wieder komplett vaskularisiert wird. Der Reparationsvorgang ist durch Knochenabbau und Aufbauvorgänge gekennzeichnet und läuft nach den Gesetzmäßigkeiten der embryonalen Knochenentwicklung in mehreren Phasen ab:

Tabelle 1: Physiologische Einheilung eines Knochentransplantats nach einem Modell von Davies 2003 (8) und Curriculum Zahnärztliche Chirurgie (9)

1. Phase (1.-2. Wo.)	<p>a) Exsudative Phase</p> <p>Einblutung in den Defekt→Blutkoagel leitet knöcherne Konsolidierung ein, vitale Osteoblasten im Transplantat beginnen mit Osteoneogenese</p> <p>b) Zelluläre Phase</p> <p>Freisetzung von Wachstumsfaktoren durch Degranulation der Thrombozyten → u.a. PDGF, TGF-β, IGF (Stimulation von u.a. Mitogenese der Knochenmarkstammzellen, Angiogenese, Aktivierung von Fibroblasten und Präosteoblasten)</p> <p>Chemotaktische Migration von Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten, die proinflammatorische Zytokine+angiogene Faktoren exprimieren</p> <p>→ kapilläre Einsprossung aus dem Lagergewebe</p>
2. Phase (3. Wo.)	<p>Abbau und Ersatz von nekrotischem Knochen durch Osteoklasten, -blasten und -progenitorzellen aus dem Periost, Freisetzung von BMPs aus Knochenstammzellen</p> <p>c) Spezifische zelluläre Phase</p> <p>Zahl der Entzündungszellen sinkt. Osteoblasten bilden Osteoid, später Geflechtknochen</p>
3. Phase (ca. 1 Jahr)	<p>Unter funktioneller Belastung Umbau zu Lamellenknochen</p>

In der dritten Phase führen Einbauvorgänge zu Volumenverlust, was eine primäre Überkonturierung des Knochentransplantates oder eine Kondensierung (Knochenverdichtung) notwendig macht. Darüber hinaus kann durch einen mechanischen und/oder chemischen Resorptionsschutz der Knochenabbau auf der Oberfläche des Transplantats vermieden bzw. verlangsamt werden. Dies soll im Folgenden erörtert werden.

1.3 Mechanischer Resorptionsschutz

1.3.1 Periostabdeckung

Knochenneubildung und -heilung nach einer freien Knochentransplantation sind wesentlich auf überlebende zelluläre Elemente im autogenen Transplantat zurückzuführen, die sich u.a. im Periost befinden. Osteoprogenitorzellen, Stammzellen und Gefäßeinsprossung gehen zum großen Teil auf das Periost zurück. Studien mit periostbedeckten Knochendefekten liefern befriedigende Ergebnisse.(10; 11)

1.3.2 Membranen

Mechanische Gewebebarrieren wie Membranen oder Folien werden in der GTR (*guided tissue regeneration*, gesteuerte Geweberegeneration) seit Anfang der 90er Jahre u.a. in der Parodontologie und Implantologie benutzt. Diese Technik beruht auf der Abgrenzung der langsam regenerierenden Zellen aus Periodontalligament und Alveolarknochen von den umgebenden, erheblich schneller regenerierenden Epithelzellen.(12–14)

Dahlin et al.(15) führten bereits 1988 den ersten erfolgreichen Tierversuch in der Zahnmedizin zur Heilung von Knochendefekten durch Abdeckung mit einer Teflon-Membran durch. Auch zur Knochenaugmentation werden Membranen eingesetzt; sie sollen dabei nicht nur das unerwünschte Weichgewebe abhalten, sondern vor allem das Augmentat stabilisieren und den Verlust von Augmentationsmaterial verhindern.(16; 17)

Es werden verschiedene Typen von Membranen benutzt, die sich in resorbierbare (u.a. Kollagen, Dura mater) und nicht-resorbierbare (u.a. Polytetrafluorethylen- PTFE) einteilen lassen.(15) PTFE als erste in der GTR verwendete Membran galt lange Zeit als Standard. Trotz der hohen Stabilität werden jedoch häufig Komplikationen wie Infektionen, Wunddehiszenz und *membran exposure* beobachtet.(18)

Die Vorteile der resorbierbaren Membranen sind u.a. eine einfachere erste Operation zum Einbringen des Materials, darüber hinaus ist ein weiterer Eingriff zur Materialentfernung nicht notwendig.(19) Die Nachteile sind eine unkontrollierbare Dauer der Funktion; es wird vermutet, dass der Resorptionsprozess mit der Wundheilung und Knochenregeneration interferieren und eine allergische Immunreaktion auslösen könnte. Diese Effekte scheinen allerdings reversibel zu sein; es besteht kein negativer Einfluss auf die Regeneration des Gewebes.(20–22)

1.3.3 **Knochenersatzmaterial**

Zur Auffüllung eines Defekts können verschiedene Knochenersatzmaterialien eingesetzt werden.(13) Autogene bzw. autologe Materialien kommen vom Patienten selbst und wirken osteogen, -induktiv und -konduktiv und gelten aufgrund ihrer immunologischen Toleranz als Goldstandard. Allogene Materialien kommen von einem menschlichen Fremdspender, sind nach dem Aufbereitungsverfahren devital und wirken deshalb nur osteoinduktiv und -konduktiv. Xenogene Materialien sind tierischen Ursprungs. Ihnen fehlen sämtliche Proteinstrukturen (rein osteokonduktive Wirkung); sie imponieren aber durch einfache Sterilisation und Lagerung sowie durch ein fehlendes Immun- bzw. Infektionsrisiko. Alloplastische Materialien sind künstlich hergestellte, körperfremde Substanzen, die ebenfalls nur osteokonduktiv wirken.

In Abhängigkeit von der Defektgröße werden die Materialien allein unter Periostabdeckung oder in Kombination mit resorbierbaren bzw. nicht-resorbierbaren Membranen verwendet. Dabei werden auch autogene Knochenspäne oder Knochenblöcke angewandt. Nach Tawil et al.(2001)(16) zeigte sich ein Knochengewinn von durchschnittlich 87.6 % bei der Kombination von autogenem Knochen und Kollagenmembran. In einer *split-mouth* Studie an 25 Patienten wurde ein Ergebnis von 92 % an Defektauffüllung bei einer Kombination von xenogenen bovinen Knochenersatzmaterial (Bio-Oss®) und Kollagenmembran (Bio-Gide®) erzielt.(23) Aufgrund der chemischen Affinität der Bisphosphonate zu Kalzium bietet sich als Trägermaterial das bovine Knochenersatzmaterial (Hydroxylapatit) an. Mit Hydroxylapatit beschichtete Implantate in Verbindung mit Bisphosphonaten wurden bereits in mehreren Studien erfolgreich eingesetzt.(24–28)

1.4 Bisphosphonate

1.4.1 Therapeutischer Einsatz

Bisphosphonate werden zur Hemmung der osteoklastären Resorption in der Therapie und Prävention von Frakturen bei der postmenopausalen und glukocorticoidinduzierten Osteoporose (29; 30), Osteogenesis imperfecta (31), rheumatoider Arthritis (32), dem Morbus Paget und der Hyperkalzämie (33) benutzt. Weiterhin sind Bisphosphonate in der Behandlung und dem Management von tumorinduzierten Knochenerkrankungen (34), besonders bei Patienten mit Knochenmetastasen durch das Mammakarzinom (35; 36), dem Multiplen Myelom (37) und anderen Erkrankungen(38) unersetzlich geworden. Beim Mammakarzinom wird eine Senkung der Tumorlast (39; 40) sowie eine Reaktionskaskade vermutet, die über die Reduktion der Osteolyse im Knochen zur verminderten Freisetzung von Zytokinen, wie TGFβ und IGFs, führt, was letztendlich in einem ungünstigen Milieu für die Tumorentwicklung resultiert.(41) Auch in der Parodontologie wurde bereits in mehreren Studien zum Knochenverlust bei chronischer Parodontitis das resorptionshemmende Potential der Bisphosphonate genutzt.(42–44)

Obwohl Bisphosphonate als Medikament bereits seit 1979 (45) eingesetzt werden, ist ihre Wirkungsweise nur zum Teil erforscht.

1.4.2 Pharmakologie

Bisphosphonate sind synthetisch hergestellte stabile Analoga des anorganischen Pyrophosphats, bei denen die Sauerstoff-Brücke durch Kohlenstoff ersetzt ist. Das Pyrophosphat ist ein endogener Regulator der Knochenmineralisation in Plasma und Urin.(41)

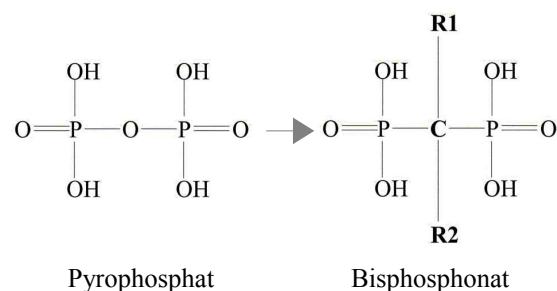


Abbildung 2: Bisphosphonat, ein Pyrophosphat-Analogon

Es reduziert durch eine starke Bindung an Kalziumphosphat dessen Kristallisation, hat aber keinen Effekt auf die Knochenresorption.

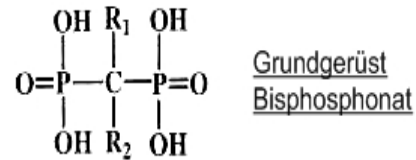
Im Gegensatz zur instabilen P-O-P-Bindung der Pyrophosphate ist die P-C-P-Bindung der Bisphosphonate gegenüber enzymatischer Spaltung, Hitze und chemischer Reagenzien sehr stabil und resistent gegen saure Hydrolyse (Abb. 2).(46)

Die Molekularstruktur der Bisphosphonate erlaubt verschiedene Variationen der zwei Reste (R₁, R₂ vgl. Abb.3), die Kohlenstoff-, Sauerstoff-, Halogen-, Sulfur- oder Stickstoffatome sowie Ketten oder Ringe tragen können. Anhand dieser Seitenketten lassen sich die verschiedenen Bisphosphonate mit individuellen biologischen und physikochemischen Eigenschaften und Wirkungspotential unterscheiden.

Die erste Generation (z.B. Etidronat, Clodronat) hat einfache Seitenketten ohne Stickstoffatom.(47)

Bisphosphonate der zweiten Generation (z.B. Alendronat, Risedronat) zeichnen sich durch die Einführung eines Stickstoffatoms bzw. durch die stickstoffhaltige Ringstruktur in der Seitenkette aus. Die dritte Generation der Bisphosphonate (z.B. Ibandronat)

besitzt eine Ringstruktur mit zwei Stickstoffatomen in der Seitenkette. Die Wirkung der Bisphosphonate lässt sich in drei Ebenen einteilen, nämlich Wirkung im Gewebe, in den Zellen und auf molekularer Ebene.





<u>Name</u>	<u>R₁</u>	<u>R₂</u>
Etidronat	OH	CH ₃
Clodronat	Cl	Cl
Pamidronat	OH	CH ₂ CH ₂ NH ₂
Alendronat	OH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂
<i>wird in der vorliegenden Studie benutzt</i>		
Ibandronat	OH	(CH ₂) ₇ -N $\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_3 \end{array}$
Risedronat	OH	CH ₂ - 
Zolendronat	OH	CH ₂ - 

Abbildung 3: Bisphosphonate verschiedener Generationen

1.4.3 Wirkung im Gewebe

Die Hauptwirkung der Bisphosphonate ist die Hemmung der Osteolyse, wodurch der Knochenumbau vermindert wird. Es kommt zu einer reduzierten Anzahl knochenabbauender

Osteoklasten, was in einer verminderten Anzahl neuer BMUs (*bone multicellular units*, Grundeinheiten des Knochenumbaus) resultiert.(48) Wie anorganisches Pyrophosphat haben Bisphosphonate eine starke Affinität zu Metallionen wie Ca^{2+} , Mg^{2+} und Fe^{2+} und bilden lösliche und unlösliche Komplexe und Aggregate. Bisphosphonate können eine dreidimensionale Struktur bilden; diese dreizahnige Konformation bindet an Metallionen und an Oberflächen, die Kalzium bzw. Kalziumphosphat enthalten. Mit einer Hydroxyl-(-OH) oder Aminogruppe (-NH₂) als Seitenkette steigt die Kalziumaffinität und damit die Bindungsstärke zu Hydroxylapatit. Diese führt zu einer raschen *Clearance* des Medikaments aus dem Kreislauf. Besonders stickstoffhaltige Bisphosphonate akkumulieren auf der Oberfläche von Knochen mit einer sehr langen Halbwertszeit (Jahre). (49; 50)

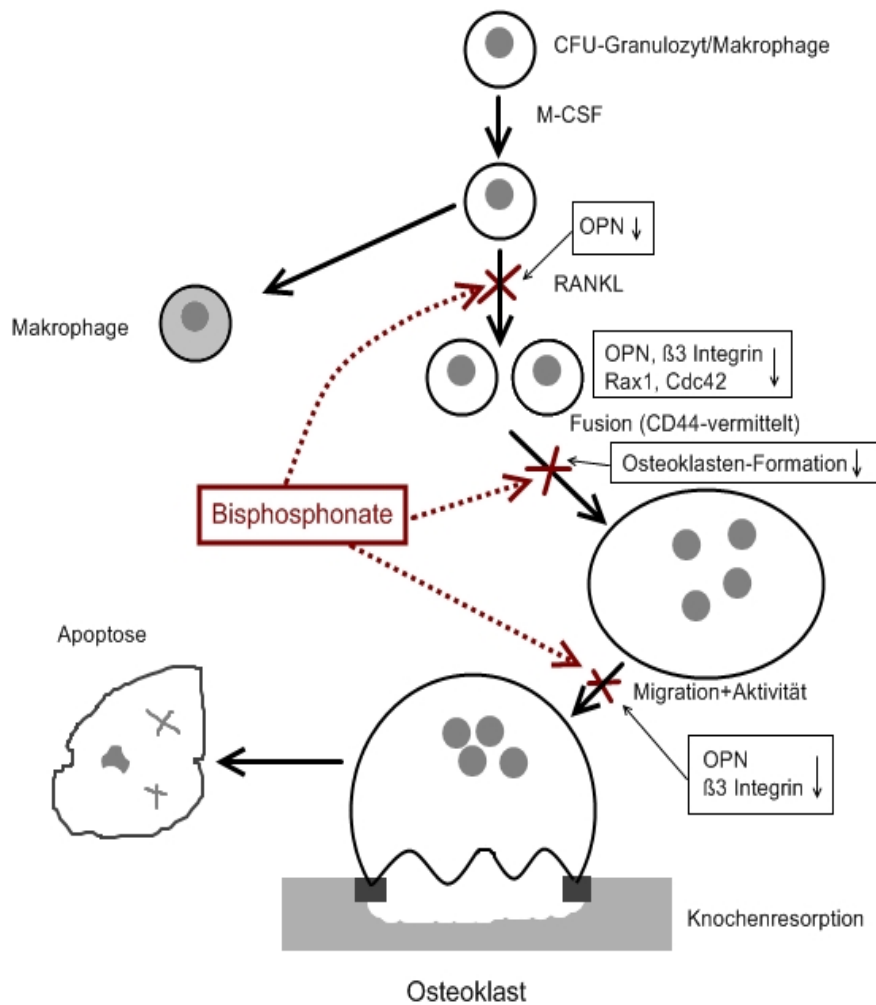
1.4.4 Wirkung in den Zellen

Bisphosphonate haben verschiedene zelluläre Wirkungsmechanismen, die hauptsächlich die Osteoklasten betreffen:

- 1.) Hemmung der Rekrutierung und Differenzierung durch Einfluss auf die Osteoklastenvorläufer und Osteoblasten
- 2.) Hemmung der Adhäsion an der Knochenoberfläche
- 3.) Induktion von Apoptose
- 4.) Hemmung der Aktivität durch Veränderung der Zellmorphologie

Die aus dem Hydroxylapatit freigesetzten Bisphosphonate werden in den Resorptionslakunen von den Osteoklasten zusammen mit der Knochenmatrix phagozytiert, wobei der Osteoklast bestimmten Morphologie- und Funktionsänderungen unterliegt. Das Zytoskelett ändert sich, außerdem wird die Anzahl der *ruffled border formation* an der zur Lakune gewandten Zellmembran der Osteoklasten reduziert. Dabei vermindert sich die Produktion von Laktatsäure, Protonen und Protonen-ATPase.

Diese Änderungen reduzieren die Knochenabbaufähigkeit der Osteoklasten und können zu deren Apoptose führen (Abb. 4).(51–54)



M-CSF= macrophage-colony stimulating factor

RANKL = receptor activator of nuclear factor κ B ligand

OPN = Osteopontin (Glykoprotein, bindet Hydroxylapatit, überexprimiert bei versch. Krebserkrankungen)

Abbildung 4: zelluläre Wirkung von Bisphosphonaten, modifiziert nach Drake, Bart & Sundeep⁵³

Die Fähigkeit der Bisphosphonate an Kalziumionen zu binden ist in niedrigen pH-Bereichen aufgrund einer Protonierung der Phosphat-Gruppen vermindert. So können im sauren Milieu der Resorptionslakunen der Osteoklasten Bisphosphonate aus dem Knochen freigesetzt werden. Bisphosphonate sind negativ geladen und damit nicht membrangängig.(51)

1.4.5 Wirkung im molekularen Bereich

Bisphosphonate können in stickstoffhaltige und stickstofffreie eingeteilt werden. Erstere wirken intrazellulär auf dem Stoffwechselweg der Mevalonsäure (Abb. 5). Mevalonsäure ist ein Zwischenprodukt in der Cholesterinsynthese. Stickstoffhaltige Bisphosphonate hemmen die Farnesyldisphosphatsynthase, ein Schlüsselenzym des Mevalonatweges, unter deren Einwirkung Farnesylpyrophosphat und Geranylgeranylpyrophosphat entstehen. Diese Stoffe dienen zur Prenylierung verschiedener GTPasen, die dann mittels der lang gestreckten, hydrophoben Prenyl-Reste an Zellmembranen verankert werden.

Wird diese „Prenylierung“ durch die stickstoffhaltigen Bisphosphonate gehemmt, führt das zu einer Störung der intrazellulären Abläufe wie der Zellmorphologie, Intergrinesignale, Bildung der *ruffled borders*, Zirkulation der Endosome und der Apoptose.(55)

Die stickstofffreien Bisphosphonate können aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit Pyrophosphat über das Enzym Typ-II-Aminoacyl-t-RNA-Synthase in die Phosphatkette ATP-haltiger Metabolite eingebaut werden, die damit nicht mehr hydrolysierbar sind. Durch intrazelluläre Akkumulation wirken sie toxisch und führen ebenfalls zur Apoptose (Abb. 5).(41; 49; 56–58)

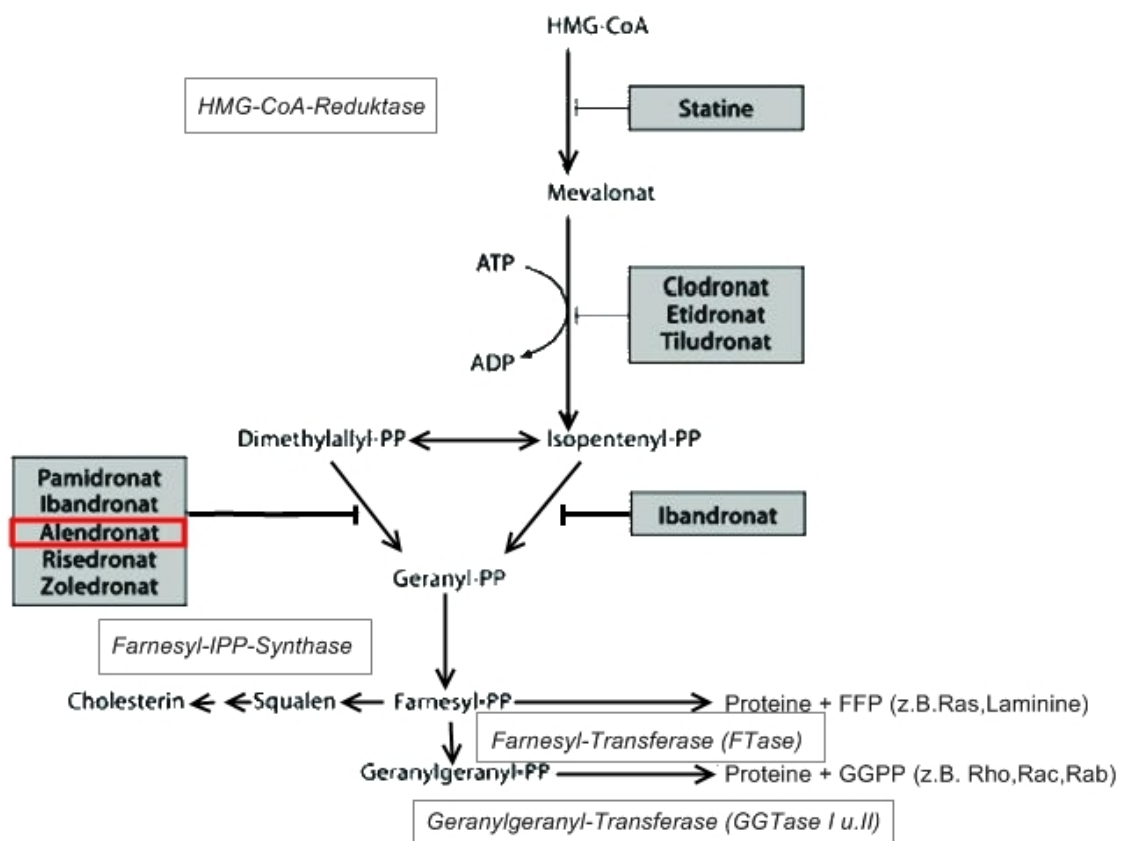


Abbildung 5: molekulare Wirkung von Bisphosphonaten, modifiziert nach Bartl & Frisch ⁵⁶

1.4.6 Nebenwirkungen von Bisphosphonaten

1.4.6.1 Allgemeine Nebenwirkungen

Pechersdorfer et al. (59) beschrieben 2000 eine Reduktion der zirkulierenden Lymphozyten-Subpopulation bei einer Behandlung mit Bisphosphonaten. Diese Akute-Phase-Reaktion wird auch von anderen Autoren(60; 61) als eine bedeutende Nebenwirkung der Bisphosphonat-Therapie gesehen. Bei betroffenen Patienten wurden erhöhte Level bestimmter T-Zellen (*V γ 9V δ 2+ T-Zellen*) gefunden, die über die Hemmung der Farnesyldisphosphatsynthese durch die verabreichten Bisphosphonate mittels einer Reaktionskaskade aktiviert worden sind. Diese T-Zellen setzen die pro-inflammatorischen Zytokine TNF α und IFN γ frei, die für die Akute-Phase-Reaktion charakteristisch sind.(61)

Weitere Nebenwirkungen sind Hypokalzämie direkt nach intravenöser Gabe, akutes Nierenversagen durch tubuläre Nekrose, gastrointestinale Beschwerden bis zur akuten Gastritis und Ösophagitis.(62)

1.4.6.2 Bisphosphonat-assoziierte Osteonekrose

Die Bisphosphonat-assoziierte Osteonekrose wird analog zur Berufskrankheit *phosphorus necrosis of the jaw* (nachfolgend *phossy jaw* genannt, Abb. 6) gesehen, die im 19. Jahrhundert und in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts vor allem bei Arbeitern der Streichholz-Industrie anzutreffen war und mit einer Letalität von 20-50 % verlief.(63; 64) Der verwendete weiße Phosphor bewirkt ähnlich resorptionshemmende, sklerosierende Effekte am Knochen wie die heute verwendeten Bisphosphonate.(65)



Abbildung 6: Abbildung eines Patienten mit „phossy jaw“ (nach Dr. Andrews 1914)

2003 wurden von Marx (66) erstmals Osteonekrosen des Kiefers in Zusammenhang mit Bisphosphonaten beschrieben. Er berichtet über 36 Patienten mit schmerzhaften freiliegenden Knochenanteilen im Kiefer, die Zoledronat oder Pamidronat i.v. zur Behandlung von Plasmozytom (18 Fälle), tumorbedingter Hyperkalzämie (17 Fälle) und Osteoporose (1 Fall) erhalten haben. Im selben Jahr wurden weitere Fälle von Osteonekrosen des Kiefers bei der Behandlung mit Bisphosphonaten veröffentlicht.(67–69) 2004 publizierte Schwarz

(70) 15 Fälle von therapieresistenten Osteonekrosen des Kiefers. Wie bereits Hellstein und Marek (2005)(71) fanden auch andere Autoren (50; 72; 73) histologische Besonderheiten bei der Bisphosphonat-assoziierten Osteochemonekrose: im Unterschied zur Osteoradionekrose und zur historischen Berufskrankheit *phossy jaw* fand eine normale Vaskularisierung des Knochens statt, selbst in Gebieten mit akuten Entzündungsinfiltraten und massivem Bakterienrasen.

Im Zeitraum von 2001 bis 2003 beobachteten Ruggiero et al. (74) 63 Patienten mit der Diagnose einer therapieresistenten Osteomyelitis des Kiefers bei chronischer Bisphosphonateinnahme. Es wurde ein Zusammenhang zwischen der Dauer der Medikation und der relativen Potenz des Bisphosphonats festgestellt.(75; 76) Unter Alendronat gefolgt von Zolendronat wurden die meisten Fälle der Osteochemonekrose registriert.(73) Die Überlegung liegt nahe, dass entweder die Präparate ein unterschiedlich hohes Risiko für die beobachtete Kiefererkrankung aufweisen, oder dass zusätzliche Faktoren Einfluss haben. Doch obwohl die Pathogenese der Osteochemonekrose bisher unklar ist, weisen das Erscheinungsbild, der histologische Befund und der Krankheitsverlauf auf eine eigene Entität der Erkrankung hin.(77; 78)

1.5 Studiendesign, Hypothese und Zielsetzung dieser Studie

Die zu prüfende Hypothese der vorliegenden Studie besagt, dass lokal aufgebrachte Bisphosphonate (Alendronat, Fosamax®) auf verschiedenen Trägermaterialien (Bio-Gide® Kollagenmembran, Bio-Oss® Granulat) vorzeitige Oberflächenresorption von Knochen- transplantaten bei Kieferkammaugmentation verhindern können. Die gering dosierte Applikation des Bisphosphonats soll dabei einen Schutz der Osteoklasten im Inneren des Transplantates bieten, um Knochenremodeling und Transplantatintegration nicht zu behindern. Oberflächlich aufgebrachte Bisphosphonate wurden bereits in experimentellen Studien in der orthopädischen Chirurgie, parodontalen Chirurgie und bei Zahnreplantationen angewendet.(7; 79–82)

Die Verwendung einer imprägnierten Kollagenmembran in der vorliegenden Studie als Alternative zu in Bisphosphonat getränkten Schwämmen oder vollständig mit Bisphosphonat benetzten Knochentransplantaten ist nach derzeitigem Kenntnisstand neu und noch nicht erforscht. Diese Studie ist ein Beitrag zur Suche nach klinischen Alternativen zur Hemmung

der Oberflächenresorption von Knochentransplantaten, um einen Fortschritt für Patienten zu erzielen, indem Rezidive vermieden oder operative Eingriffe in ihrem Umfang reduziert werden können.

Die Fragestellung für diese Studie lautet entsprechend der einzelnen übergeordneten Themenbereiche:

1. Knochenresorption:

- Ist auf der Testseite die Oberflächenresorption geringer als auf der Kontrollseite?
- Finden sich resorbierte Areale im Transplantat, sind Resorptionslakunen nachweisbar?
- Finden sich Unterschiede zwischen den Gruppen der Testseite?
- Ist die imprägnierte Kollagenmembran den anderen Methoden überlegen?

2. Osseointegration

- Unterscheiden sich die Knochenstrukturen und die Integration der Osteosyntheseschrauben auf Test- und Kontrollseite?
- Ist eine Knochenneubildung auf Test- und Kontrollseite nachweisbar?
- Findet sich ein Unterschied im neu gebildeten Knochen auf Test-, Kontrollseite und Lagerknochen?

3. Knochenremodeling und interner Knochenumbau:

- Wie hoch ist der Anteil an umgebauten Knochen?
- Lassen sich Umbauvorgänge im Inneren des Transplantats nachweisen? Wie unterscheidet sich hierbei a) die Testseite von der Kontrollseite und b) das Transplantat vom Lagerknochen?
- Wie verhält sich die Umbaugeschwindigkeit und der prozentuale Anteil des Knochens im Verlauf der Studie?

2 Material und Methoden

2.1 Tierpopulation und Tierhaltungsbedingungen

Acht erwachsene Hausschweine mit dem Mindestalter von 18 Monaten wurden gewählt, um die Konditionen von erwachsenen Patienten zu demonstrieren. Die Knochenappositions- und Resorptionsraten liegen im Vergleich zu Nagetieren in der Nähe der menschlichen. Die absolute Größe des Kieferkammes und die Dimension des geplanten Transplantates sind denen des Menschen am ähnlichsten und entscheidend für den Versuch, da Parameter wie Diffusionsstrecke (über die die Zellen in den ersten Tagen der Wundheilung ernährt werden können) und absolutes Defektvolumen die Ausheilungsmöglichkeiten mitbestimmen. Die Hausschweine lebten artgerecht in einem Schweinestall auf Stroh und waren wohlgenährt. Sie erhielten täglich zwei Mal 250 g diätische Standard-Softnahrung (Altromin 9023[®], Altromin International GmbH, Lage, Deutschland) und Wasser ad libitum. Die Schweine wurden täglich durch das für den Stall zuständige Personal und zweimal wöchentlich durch einen Veterinärmediziner betreut. Der Stall befand sich in einem ordentlichen Zustand, wurde zweimal täglich gereinigt und unterlag einem normalen Tag-Nacht Rhythmus.

2.2 Tierversuchsgenehmigung

Die Versuchsdurchführung erfolgte am Institut für Rechtsmedizin der Semmelweis Universität Budapest unter Aufsicht von Dr. E. Felszeghy im Tierstall Herceghalom. Die Studie wurde im Pest Megyei Állategészségügyi és élelmiszer ellenőrző allomás (Ministry of Agriculture and Rural Development) durch das Komitat Pest Animal Health and Food Control Station (Versuchstiergenehmigung Nr.:1053/eoh/2007) Budapest, Ungarn genehmigt.

2.3 Narkose und Medikamente

Die Operationen wurden in intravenöser Narkose mit Ketanest / Rompun[®] Gemisch durchgeführt. Vorher wurde 2 mg Rompun[®] 2 % (Xylazin, Bayer Vital gmbH, Leverkusen, Deutschland) mit 10 mg Ketamin pro kg Körpergewicht intramuskulär als sedativum, Analgetikum, Anästhetikum und Muskelrelaxans verwendet. Die Tiere erhielten eine perioperative Antibiose durch eine präoperative intravenöse Injektion von 1,5 g Augmentan[®]

(Amoxicillin+Clavulansäure, GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH&Co.KG, München, Deutschland). Unmittelbar postoperativ in der Aufwachphase wurde eine Analgesie durch eine intramuskuläre Injektion mit 500 mg Metamizol (Novalgin®, Hoechst AG, Bad Soden, Deutschland) sowie ein Analgetikazusatz zum Futter von zwei Mal 50 mg/Tag Tramadol (Tramal®, Grünethal GmbH, Aachen, Deutschland) verabreicht.

2.4 Operative Vorgehensweise und Materialien

Nach Desinfektion mit Betaisodona® (Braun, Melsungen, Deutschland) wurden die Tiere steril abgedeckt. Dann erfolgte intraoral ein Zahnfleischrandschnitt mit einem distalen Entlastungsschnitt zum aufsteigenden Unterkieferast und Bildung eines Mukoperiostlappens. Am Kieferwinkel wurden mit einem Trepanbohrer (Durchmesser 1 cm) rechts 3 und links 4 kortikospongiöse Knochenblöcke unter sorgfältiger Kühlung bei 500 U/min umfräst und dann mit einem Meißel gehoben (Abb. 7).



Abbildung 7: Versuchsdesign an einem Schweineschädel: je Seite werden 3 bzw. 4 Knochenblöcke im Kieferwinkel gehoben und in den anterioren Bereich des Unterkiefers mit jeweils 2 Osteosyntheseschrauben aufgebracht

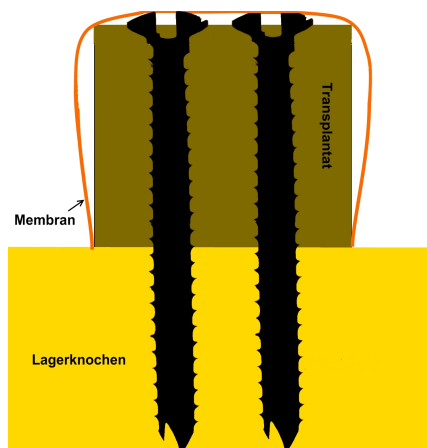


Abbildung 8: Schema des Versuchsaufbaus am Bsp. einer Bisphosphonat-benetzten Kollagenmembran

Ein Knochentransplantat wurde links zusammen mit dem befestigten Periost gehoben. Die Transplantate wurden in steriler Ringer-Lösung kurzfristig zwischengelagert. Nach sorgfältiger Dekortikation und Perforation des Transplantatlagers (Setzen von Blutungspunkten mittels Rosenbohrer) wurden die autologen Knochentransplantate mit der Kortikalisseite nach außen jeweils mit zwei Titanosteosyntheseschrauben von 1,5 mm Durchmesser und

13 mm Länge (Martin Medizintechnik, Tuttlingen, Deutschland) in Zugschraubentechnik im anterioren Bereich des Unterkiefers vestibulär fixiert (Abb. 8).

Die Osteosyntheseschrauben dienten als Höhenmarker der Resorption, als histomorphometrische Bewertung der Oberflächenresorption und Rate der Osseointegration. Die autologen Knochenblöcke waren lagestabil und bildeten sieben Versuchsgruppen mit Test- (Bisphosphonat) und Kontrollseite (ohne Bisphosphonat).

Tabelle 2: Versuchsaufbau am split-mouth-Modell

Testseite	Kontrollseite
Alendronat imprägnierte Bio-Gide®- Membran	Bio-Gide® Membran
Alendronat getränktes Bio-Oss® Granulat	Bio-Oss® Granulat
Alendronatpulver	ohne spezielle Hilfsmittel
-	mit Periost gehoben

Die Testgruppen (Bisphosphonat-benetzt) befanden sich auf der rechten Unterkieferseite. Die Knochentransplantate wurden jeweils bedeckt mit einer imprägnierten 15 x 20 mm großen Bio-Gide® Kollagenmembran (Geistlich, Baden-Baden, Deutschland), getränktes Bio-Oss® Granulat Knochenmineral (Geistlich, Baden-Baden, Deutschland) bzw. ohne spezielle Hilfsmittel. Die Imprägnierung erfolgte mit einer intraoperativ hergestellten Alendronatlösung mit der Konzentration 1 mg/ml. Das dritte Knochentransplantat wurde mit dieser Lösung direkt benetzt. Auf der linken Seite des Unterkiefers befanden sich die Kontrollgruppen (ohne Bisphosphonat). Die beiden Seiten wurden somit identisch operiert bis auf die Benutzung von Bisphosphonat auf der Versuchsseite. Nach der Transplantation der Knochenblöcke und deren Behandlung nach dem Versuchsdesign der Studie erfolgte ein plastischer Wundverschluss der Mundschleimhaut mit Vicryl® (Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland) der Stärke 2.0 als Nahtmaterial.

Bereits in der ersten Woche konnten die Tiere neben der Wundheilung einem normalen Freßverhalten nachgehen. Es konnte direkt postoperativ normales Futter eingesetzt werden. In der ersten Woche wurde eine Schmerzmedikation mit dem Futter verabreicht. Die Einheilungszeit betrug 12 Wochen. Am Ende der Versuchszeit erfolgte die Opferung der Tiere in tiefer Intubationsnarkose durch intravitale Perfusionsfixation.

2.5 Intravitale polychrome Sequenzmarkierung

Nach der Operation wurde wöchentlich eine Injektion von Fluorochromen zur Markierung des Knochenanbaus vorgenommen. Die Injektion erfolgte schmerzfrei intraperitoneal in tiefer Sedierung.

Tabelle 3: Zeitlicher Ablauf und Farbstoffe der Sequenzmarkierung

Markierungszeitpunkt	Fluoreszenzfarbstoff	Dosis (ml/kg KGW)
14. und 21. postoperativer Tag	Xylenol-Orange	1,5
28. und 35. postoperativer Tag	Calcein-Grün	5
42. und 49. postoperativer Tag	Alizarin-Rot (Fa. Synopharm, Barsbüttel, D)	0,83
56. und 63. postoperativer Tag	Doxycyclin (Fa. Ratiopharm GmbH, Ulm, D)	1,5

2.6 Herstellung der Präparate und mikroskopische Auswertung

2.6.1 Herstellung der Präparate

Nach der Explantation der Knochenblöcke mit dem darunter liegenden Lagerknochen und umliegenden Weichgewebe wurden diese mit einer Bandsäge (Exakt, Norderstedt) unter radiologischer Kontrolle zersägt. Anschließend erfolgte eine Lagerung für drei Tage in 10%-igem Formalin. Zunächst wurden die Präparate an der Bandsäge median zwischen den Osteosyntheseschrauben zugeschnitten, sodass jeder Knochenblock eine Osteosyntheseschraube und eine möglichst große Knochenstrecke enthielt.

Als Vorbereitung für den Gewebe-Einbettautomaten (PSI Medizintechnik Grünwald) wurden die Präparate weitere zehn Tage in 10%igem Formalin fixiert. Anschließend wurden die einzelnen Präparate mit Nummern versehen. Dies erfolgte mit Bleistift auf Halbkarton; jedes Präparat wurde mit der entsprechenden Nummer in Gaze gewickelt. Jeweils acht solcher Päckchen konnten in einem Metallkorb gesammelt und in den Einbettautomaten eingebracht

werden. Durch einen Hebelarm am Automaten wurde der Metallkorb mit den Präparaten nacheinander in zwölf verschiedene Behälter abgesenkt. Gemäß Programmierung erfolgte dabei eine Entwässerung in einer Alkoholreihe, Entfettung in Azeton und schließlich Einbettung in Methacrylat (Tab. 4).

Tabelle 4: Einbettschema

1.	60 % Ethanol	2 Std.
2.	80 % Ethanol	2 Std.
3.	90 % Ethanol	4 Std.
4.	96 % Ethanol	5 Std.
5.	100 % Ethanol	4 Std.
6.	1:1 Azeton-Ethanol	1 Std.
7.	1:1 Azeton-Ethanol	4 Std.
8.	100 % Ethanol	1 Std.
9.	100 % Ethanol	4 Std.
10.	100 % Ethanol	3 Std.
11.	Methacrylsäuremethylester	12 Std.
12.	Einbettungsgeschmisch	3-5 Tage im Kühlschrank

Nach der von Donath und Breuner (1982)(83) publizierten Methode der Hartschlifftechnik wurden die Präparate in gesockelten Glasgefäßen mit Kunststoffmonomerlösung im Inkubator bei 37-40 °C Temperatur über 2-4 Tage mit Harz infiltriert. Nach Auspolymerisation wurden die Glasgefäße zerschlagen, mit der Metabo Bandsäge (BAS 380D) konnten anschließend grobe Kunststoffschnitte von ca. 0,5 mm Dicke gewonnen werden. Am Trimmer wurde eine Fläche parallel zur Achse der Schraube mit maximal erhaltener Knochenstrecke ausgerichtet. Mit Hilfe einer PC-gesteuerten Pendel-Diamant-Bandsäge (Fa. Exact, Norderstedt) wurde eine ca. 200µm dicke Scheibe aus dem Block herausgesägt, in der mittig die Schraube in Längsrichtung angeschliffen war.

2.6.2 Mikroradiographie

Die Mikroradiographie ist eine Kontaktröntgenaufnahme von mineralisierten Hartgewebsschliffen, mit der man eine Auflösung von bis zu einem Mikron erreichen kann. Die gewünschte Schichtdicke des Schliffobjekts auf dem Objektträger für Mikroradiographien liegt zwischen 80 und 100 µm. Mit einem Schleifgerät (Schleifgerät 400CS Fa. Exact, Norderstedt) wurden die Präparate auf ca. 90 µm reduziert, anschließend poliert (Silikonkarbidpapier, Körnung 500-4000) und mit einer Doppelklebefolie auf einen Acryl-objektträger geklebt. Die Mikroradiographie wurde auf 2 x 2“ (Inch) große Platten (Microchrome Technology Inc., San Jose, CA, USA) mit 3 mA und 25 kV mit einem Mikroradiographen (Faxitron X-ray System, Hewlett Packard GmbH, Böblingen, Deutschland) durchgeführt. Die Belichtungszeit belief sich auf sieben bis zwölf Minuten. Ein HPR-Developer® und ein Kodak-Fixer 3000A® (beide Kodak, Stuttgart, Deutschland) dienten zur Entwicklung der belichteten Platten.

2.6.3 Fluoreszenzmikroskopie

Um Erkenntnisse über die Um- und Aufbauvorgänge nach der Operation zu erhalten, wurde in dieser Arbeit die Methode der intravitalem polychromen Sequenzmarkierung mit Fluorochromen angewendet. Die Fluoreszenzfarbstoffe werden im Verlauf der Mineralisation durch Chelatbildung an die Kalziumionen in die Mineralisationsfront des neu gebildeten Knochens eingebaut und können im Präparat unter Blaulicht als Banden sichtbar gemacht werden. Die Objekte wurden dafür auf neue Acryl-objektträger mit Technovit® (Fa. Exakt, Norderstedt) aufgeklebt, auf 40 µm mit dem Schleifgerät (400CS Fa. Exact, Norderstedt) reduziert und poliert.

2.6.4 Toluidinblaufärbung

Die Präparate wurden nach Auswertung der Fluoreszenzen mit Toluidinblau gefärbt. Dabei kam 0,1%ige Ameisensäure zur Entkalkung der Schliffoberfläche und 20%iges Methanol zur Verbesserung der Zell- und Weichgewebsanfärbung zur Verwendung. Mineralisiertes Hartgewebe bleibt bei dieser Färbung ungefärbt bis blassblau; Zellen, Zellkerne,

Osteoidräume, Kittlinien und Kollagenfasern sind blau; Mastzellgranula, Knorpelmatrix, frühe Wundheilungsareale sind metachromatisch rotviolett gefärbt.

2.6.5 Histomorphometrie und mikroskopische Auswertung

Sämtliche Präparate wurden zunächst bei vierfacher und zweifacher Vergrößerung mit einer Nikon Coolpix 5000 im Mikroskop Nikon Mikrophot FXA-System fotografiert, die fluoreszierenden Präparate unter UV-Licht. Anschließend wurden die ca. 20 Einzelbilder pro Präparat mit CorelDRAW® Graphics Suite 12 zusammengesetzt. Die Auswertung erfolgte qualitativ und quantitativ mit Hilfe eines computergestützten morphometrischen Programms einer digitalen Bildanalysekamera (Q500MC, Leica® Cambridge Ltd., Cambridge, England).

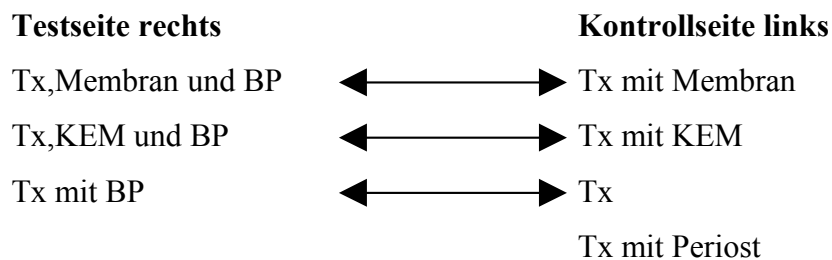
2.6.6 Statistik

Die Messwerte wurden mit Mittelwerten und Medianen sowie den Streuungsmaßen Standardabweichung und Quartilen grafisch dargestellt. Aufgrund des Verteilungsmusters wurde keine Normalverteilung angenommen. Die statistische Analyse erfolgte als Rangstatistik nach Friedman (84) und paarweisen Vergleichen nach Wilcoxon und Wilcox (85) auf dem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$.

3 Ergebnisse

Alle Tiere haben ohne Anzeichen von Gewichtsverlust, Verhaltensauffälligkeiten oder anderen Anzeichen von Beeinträchtigung bis zum Ende des Experiments überlebt. Makroskopisch waren am Implantationsort auf der Testseite Knochennekrosen, schlecht verheilte Operationswunden und Schwellungen der Weichteile erkennbar. Bei Explantation konnten 13 von 24 Präparaten der Testseite aufgrund von nekrotischen Arealen nicht ausgewertet werden. Alle weiteren Transplantate der Testseite wurden lose durch die Osteosyntheseschrauben im Lagerknochen gehalten; makroskopisch war keine Osseointegration zu erkennen. Im Gegensatz dazu lassen sich die Transplantate der Kontrollseite makroskopisch nicht vom Lagerknochen unterscheiden.

Die einzelnen Gruppen wurden untereinander wie folgt verglichen. Die Gruppe mit der Periostabdeckung stand dabei für sich.



Die Messungen erfolgten auf beiden Seiten der Osteosyntheseschrauben zweimal je Präparat. Daraus ergibt sich für die Testseite ein N=44. Um vergleichbare Werte auf der Kontrollseite zu bekommen wurden auf der Kontrollseite 11 Präparate ausgewählt, an denen jeweils zweimal zwei Messungen durchgeführt wurden (N=44).

3.1 Knochenresorption

Die Knochenresorption als Zeichen osteoklastischer Aktivität wurde auf der Oberfläche als Abstand des Implantatkopfes vom Transplantat und Anzahl der Resorptionslakunen im Transplantat gemessen. Eine Oberflächenresorption war sowohl auf der Test- als auch auf der Kontrollseite zu erkennen (Abb. 9).

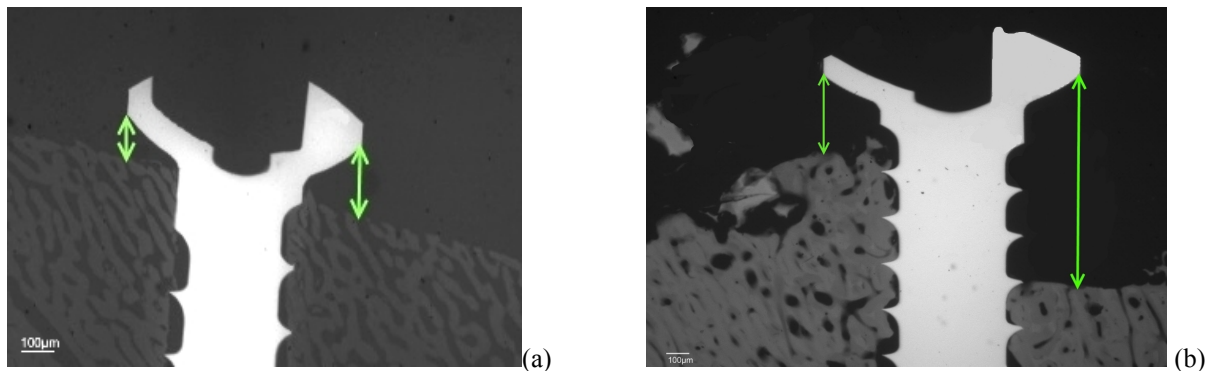


Abbildung 9: Knochenresorption auf der Testseite (a) und Kontrollseite (b), gemessen anhand des Abstandes vom Kopf der Osteosyntheseschraube zum Transplantat auf beiden Seiten; Mikroradiographie

Wie aus Abbildung 10 ersichtlich ist, fand auf der Kontrollseite durchschnittlich die meiste Oberflächenresorption statt; sie betrug das doppelte in der Gruppe mit der Kollagenmembran ($p=0,002$), bis zum dreifachen in der Gruppe mit Knochenersatzmaterial ($p=0,000$) der Testseite. Ein geringer Unterschied von durchschnittlich 0,01 mm wurde in der Gruppe Transplantat mit bzw. ohne Bisphosphonat gefunden. Die höchste Oberflächenresorption konnte in der Gruppe mit Periostabdeckung gemessen werden. Die geringste Oberflächenresorption wiesen die Präparate Kollagenmembran mit Bisphosphonat auf (Abb. 11). Die paarweisen Vergleiche durch den Wilcoxon-Wilcox-Test ergaben signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen ($p \leq 0,05$). Aus dem klaren Übergewicht der positiven Differenzen im Wilcoxon-Wilcox-Test konnte außerdem geschlossen werden, dass weit überwiegend die Werte der Kontrollseite größer als die der Testseite sind. Somit ist die Resorptionshöhe auf der Testseite geringer.

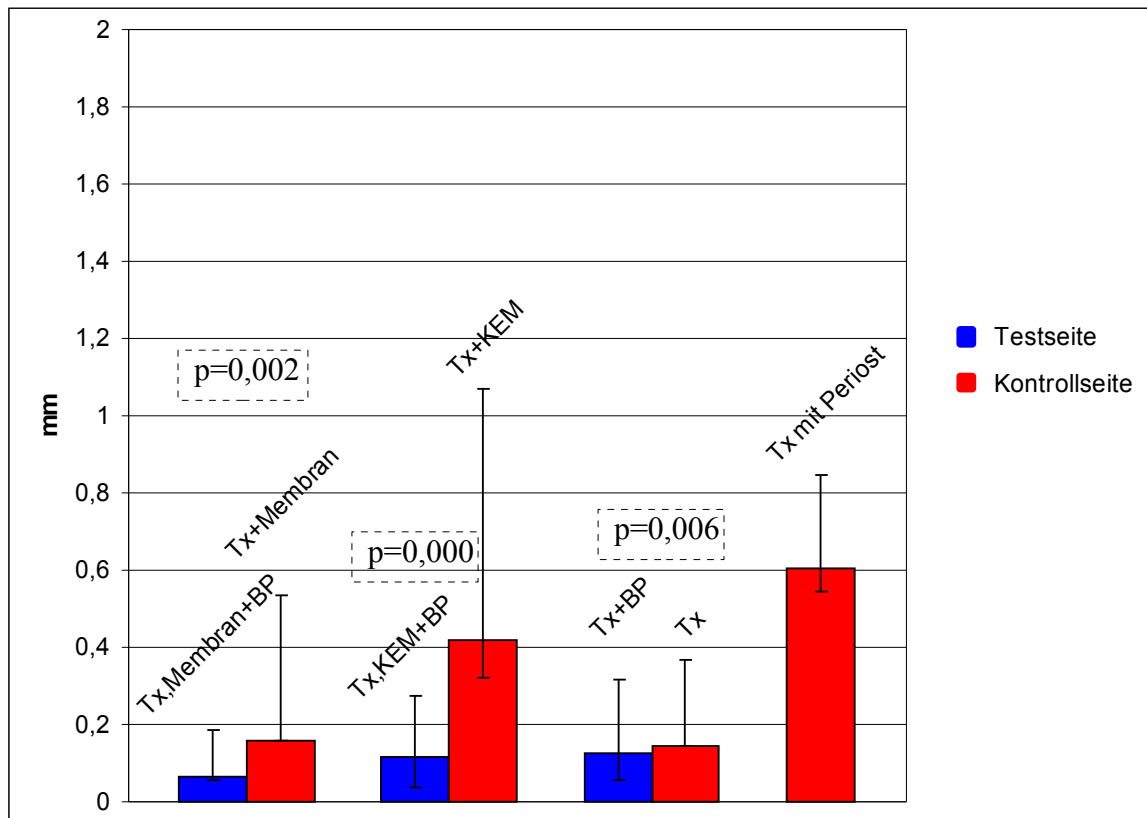


Abbildung 10: Resorptionshöhe auf Test- und Kontrollseite in mm, gemessen anhand des Abstands des Kopfes der Osteosyntheseschraube zum Transplantat

Der Friedman-Test mit multiplen Vergleichen ergab statistisch höchst signifikante Unterschiede zwischen der Test- und Kontrollseite mit einem $p=0,000$.

Nicht nur auf der Oberfläche, auch auf der zum Lagerknochen gerichteten Unterseite des Transplantats konnte eine Knochenresorption nachgewiesen werden. Diese wurde allerdings nur auf der Testseite beobachtet. In der Toluidinblaufärbung konnte Bindegewebe sichtbar gemacht werden, welches in die offensichtlich osteoklastisch resorbierten Lakunen eingewachsen ist (Abb. 11, 12).

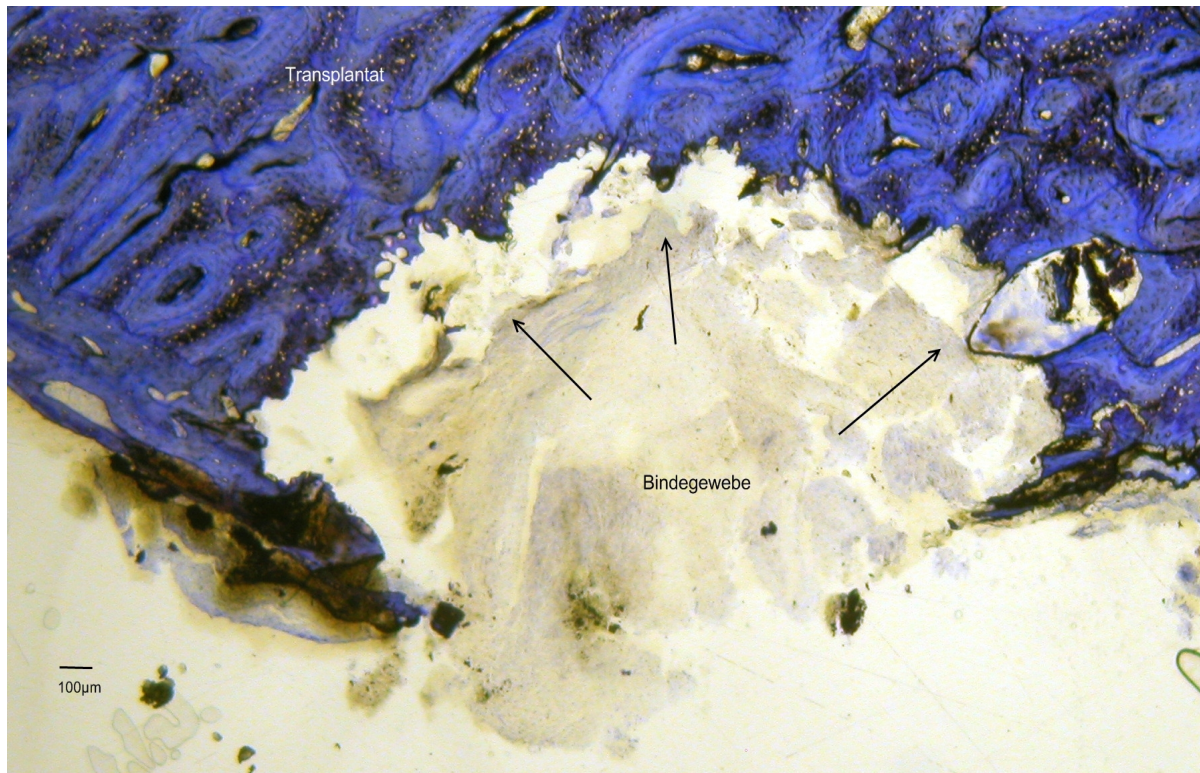


Abbildung 11: Testseite; resorbierte Unterseite des Transplantates mit eingewachsenem Bindegewebe; Toluidinblaufärbung

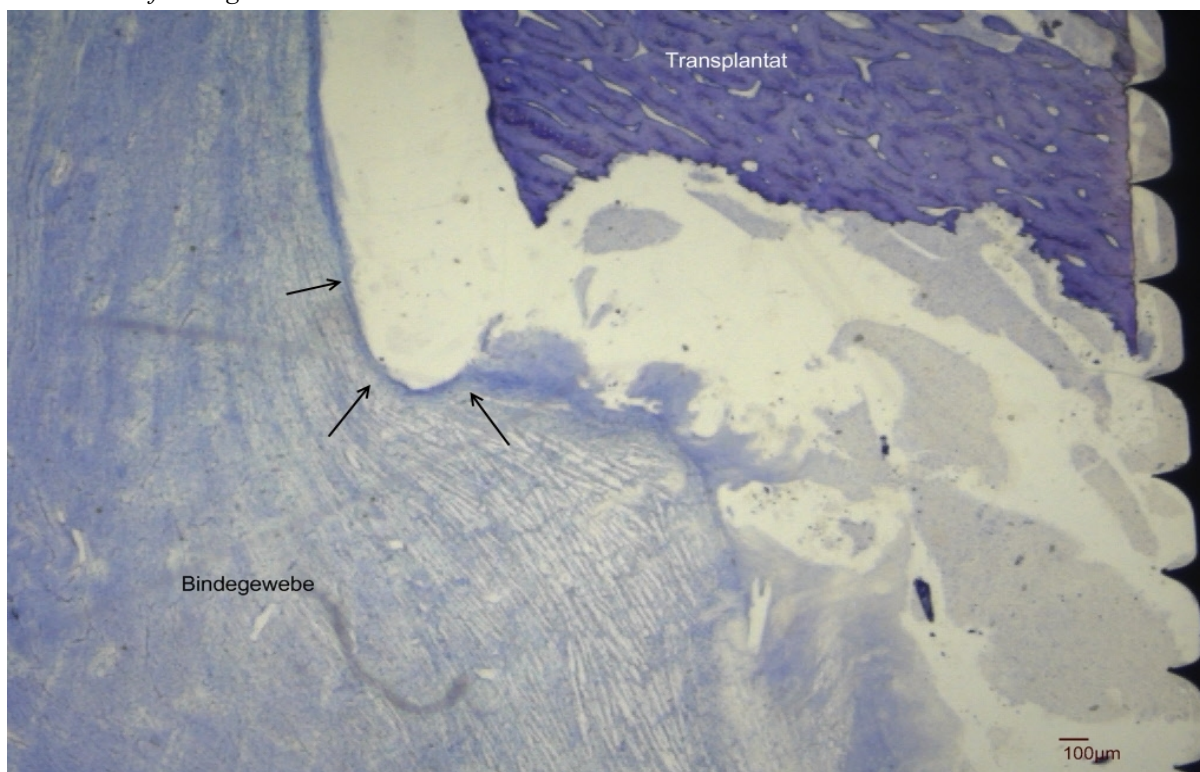
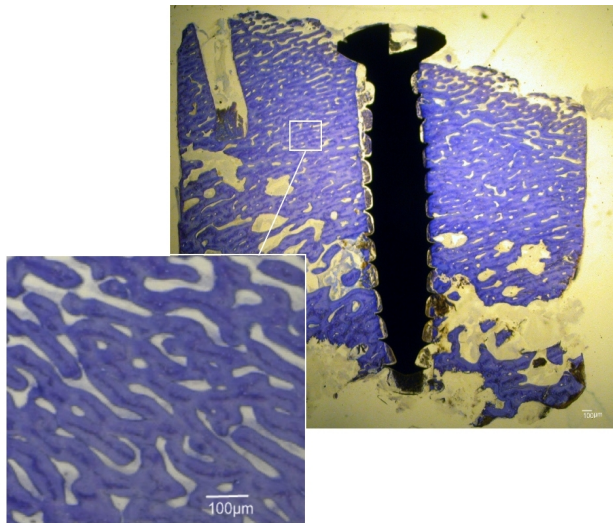


Abbildung 12: Testseite mit resorbierter Unterseite; bei der Herstellung der Präparate entstand ein Freiraum (Artefakt) zwischen Bindegewebe und Transplantat; Toluidinblaufärbung

Diese Resorptionslakunen sind auch im Übersichtsbild auf der Kontrollseite erkennbar. (Abb. 13).

a)



b)

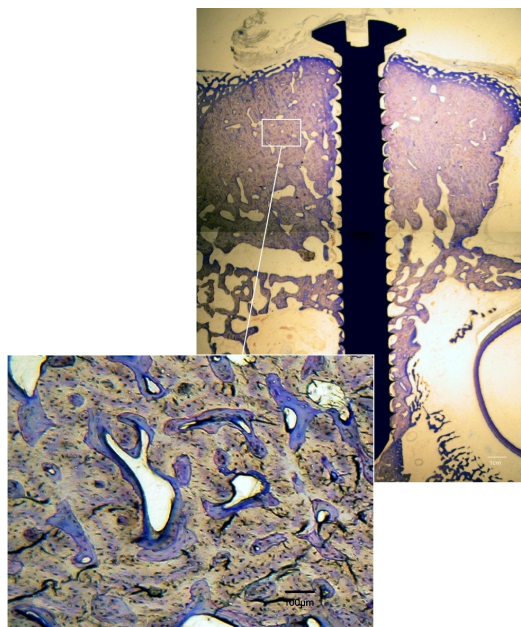


Abbildung 13: Übersichtsbild von Test- (a) und Kontrollseite (b, Lagerknochen im unteren Bereich erkennbar) mit jeweils einem Ausschnitt aus dem Transplantat: die unterschiedliche Knochenmorphologie und -dichte ist klar erkennbar; Toluidinblaufärbung

Als ein Anzeichen für osteoklastische Aktivität im Inneren des Transplantats wurden in der histomorphometrischen Auswertung Resorptionslakunen in definierten Rahmen gezählt. Auf der Testseite konnten sie nur in der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial und Bisphosphonat gefunden werden (Tab. 5).

Tabelle 5: Anzahl der Resorptionslakunen im definierten Rahmen aus dem Transplantat

TESTSEITE	Mittelwert	Stand.Abw.	KONTROLLSEITE	Mittelwert	Stand.Abw.
Tx,Membran+BP	0	0	Tx+Membran	14,2	1,4
Tx,KEM+BP	0,36	0,88	Tx+KEM	18	3,95
Tx+BP	0	0	Tx	17,73	2,53
			Tx+Periost	16,27	2,96

Interessant ist die Feststellung, dass auch auf der Kontrollseite die Gruppe mit dem Knochenersatzmaterial die meisten Resorptionslakunen aufweist. Auffällig ist außerdem, dass die Standardabweichung in der zweiten Gruppe am größten ist (Abb. 15).

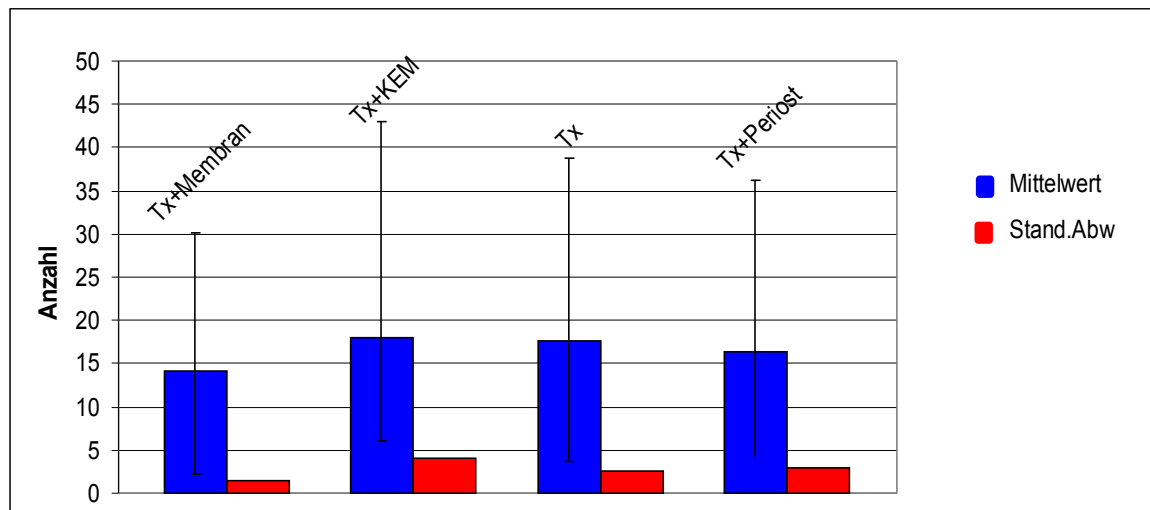


Abbildung 14: Kontrollseite; Anzahl der Resorptionslakunen im definierten Rahmen

3.2 Osseointegration der Osteosyntheseschrauben

Die Osseointegration der Osteosyntheseschrauben wurde anhand des Kontakts zwischen Implantat und Transplantat bestimmt. Zusätzlich konnte in der histomorphometrischen Auswertung der Fluoreszenzen der Anteil des umgebauten (also neuen) Knochens am Implantat ermittelt werden. Bereits makroskopisch fiel auf, dass die Osteosyntheseschrauben auf der Kontrollseite im Gegensatz zu denen auf der Testseite fest im Transplantat und Lagerknochen verankert sind. In den Mikroradiographien konnte der makroskopische Verdacht bestätigt werden (Abb. 16). In dieser Abbildung wird bereits die deutlich homogenere Knochenstruktur des Transplantats auf der Kontrollseite deutlich. Darüber hinaus deutet die abgerundete Struktur im Gegensatz zur Testseite auf einen gewissen Um- und Einbau hin. Der Lagerknochen mit der etwas lockereren Knochenbeschaffenheit umschließt das Transplantat. Auf der Testseite kann die ursprüngliche blockartige Transplantatform immer noch gut erkannt werden. Auf der Unterseite sind Resorptionslakunen erkennbar, die – wie bereits in Abb. 12 und 13 gezeigt – Bindegewebe enthalten.

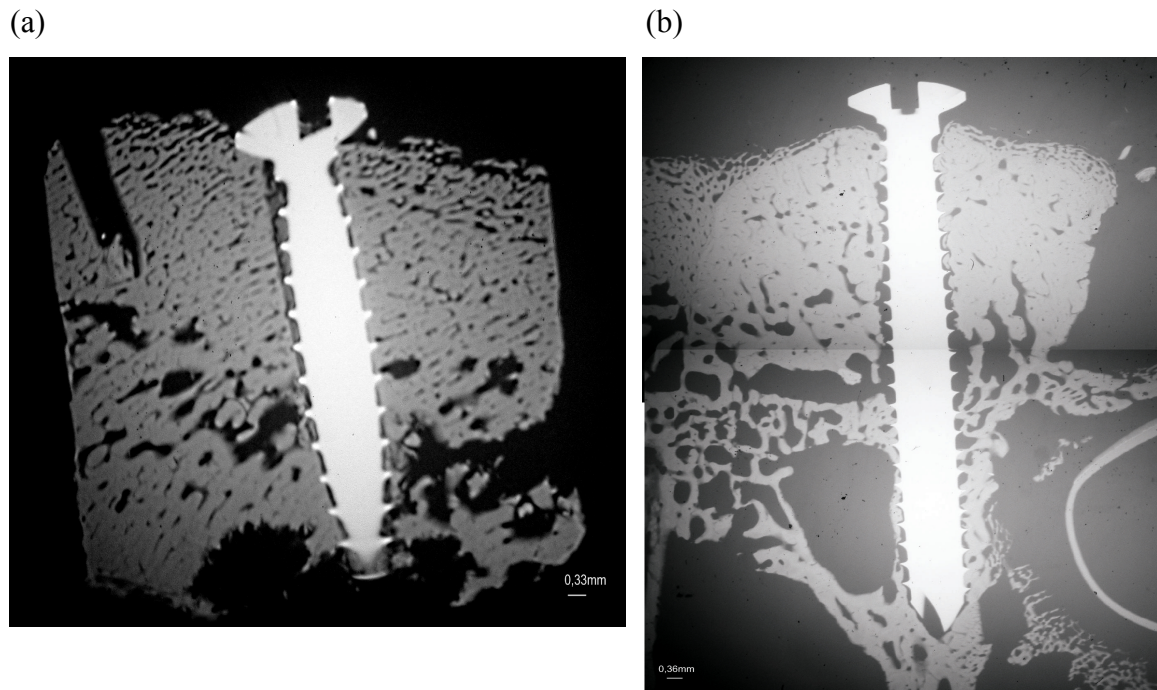


Abbildung 15: Unterschiedlich dichte Knochenstruktur und Implantatintegration auf Testseite (a) und Kontrollseite (b); Mikroradiographie

Wie in Abb. 17 zu erkennen, legt sich der Knochen im Vergleich zur Kontrollseite auf der Testseite den Implantatwindungen nicht direkt an. Vielmehr bietet die Testseite ein klassisches perioperatives Bild direkt nach Einbringen des Implantats.

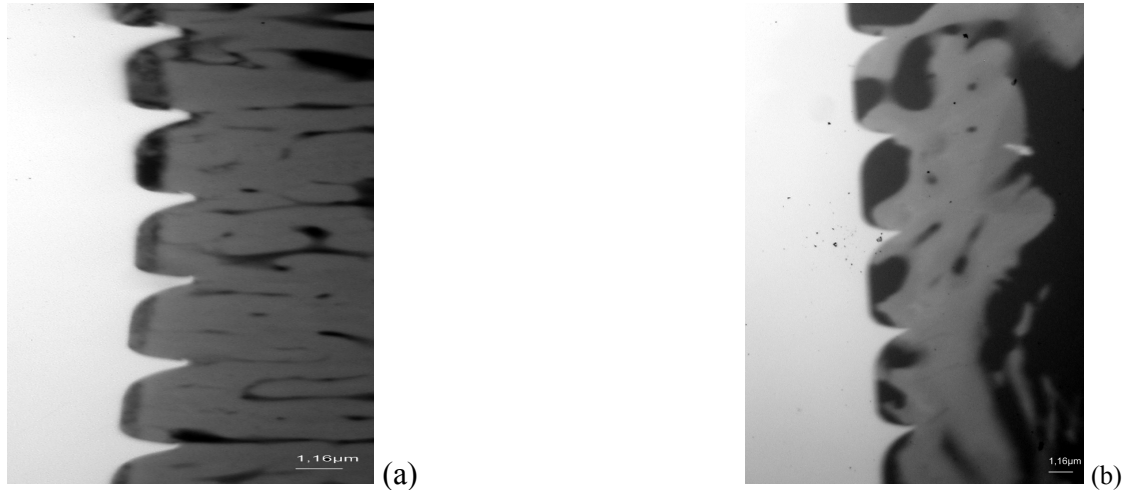


Abbildung 16: höher vergrößerte Ansicht zur Osseointegration des Implantats auf Testseite (a) und Kontrollseite (b); Mikroradiographie

Der prozentuale Anteil der Berührungsfläche zwischen Implantat und Transplantat wurde bestimmt (Tab. 5). Die statistische Auswertung ergab im Friedman-Test mit multiplen Vergleichen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Test- und Kontrollseite mit einem $p=0,024$. Im anschließend erfolgten Wilcoxon-Wilcox-Test konnten signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen gefunden werden ($p \leq 0,05$).

Tabelle 5: Osseointegration des Implantats in % auf Test- und Kontrollseite

TESTSEITE	Mittelwert	Stand.Abw.	KONTROLLSEITE	Mittelwert	Stand.Abw.
Tx,Membran+BP	31,65	5,5	Tx+Membran	16,39	12,68
Tx,KEM+BP	12,19	6,4	Tx+KEM	27,53	18,24
Tx+BP	36,35	13,66	Tx	19,02	12,54
			Tx mit Periost	28,13	11,91

In der Membran-Gruppe sowie in der Gruppe ohne Abdeckung war der Prozentsatz des Kontakts auf der Testseite doppelt so hoch wie auf der Kontrollseite. In der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial ist das Verhältnis umgekehrt (Abb. 17).

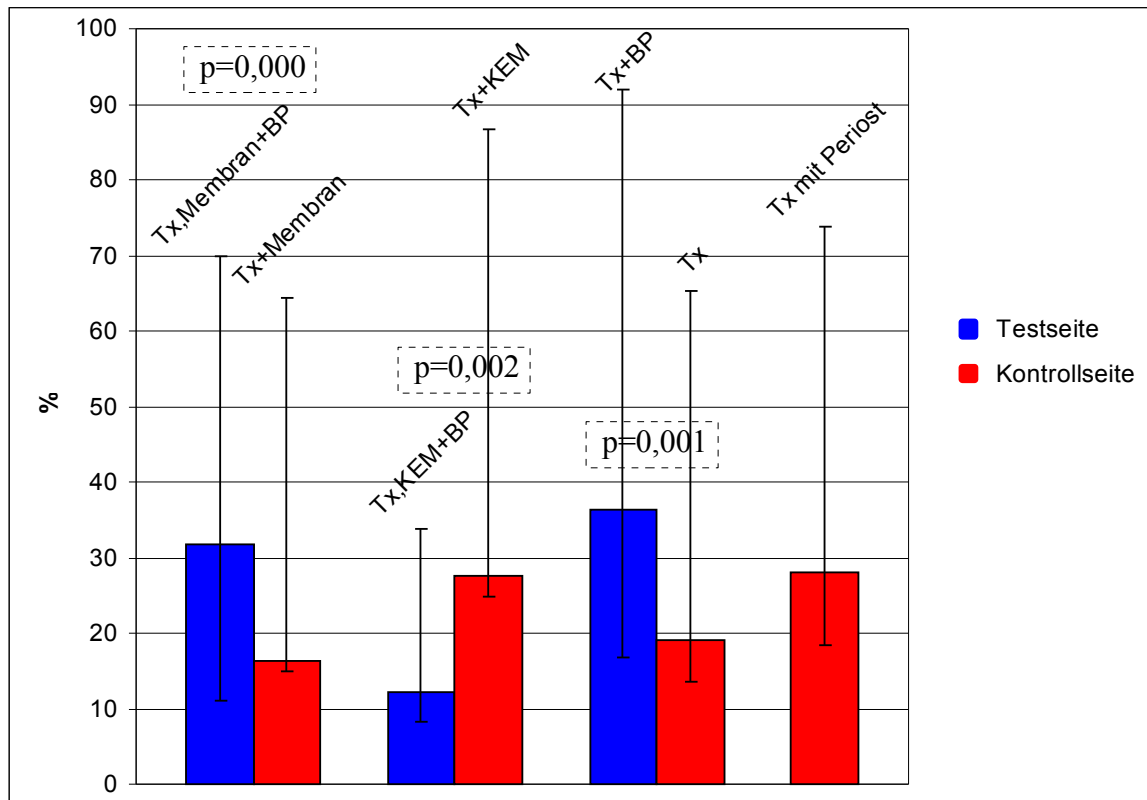


Abbildung 17: Osseointegration des Implantats in % auf Testseite und Kontrollseite

Neu gebildeter Knochen im Transplantat als Zeichen der Osseointegration ließ sich anhand der histomorphometrischen Auswertung der Fluoreszenzen darstellen. Die Fluoreszenz-Farbstoffe lagern sich hierbei im umgebauten Knochen ein. Der Gesamtanteil an fluoreszierenden Knochen in % wurde dabei im definierten Rahmen (Gesamtfläche 45,48 mm²) im Transplantat und Lagerknochen gemessen.

Auf der Testseite konnten keine fluoreszierenden Banden nachgewiesen werden. Erst an der relativ scharfen Grenze zum Lagerknochen lassen sich fluoreszierende Anteile erkennen (Abb.19). Das Transplantat wirkt im Vergleich zum Lagerknochen matt. Auf der Kontrollseite sind die fluoreszierenden Banden im Transplantat mit denen im Lagerknochen vergleichbar, wobei die fluoreszierenden Anteile im Transplantat kleinen Inseln gleichen. Im Lagerknochen dagegen verlaufen sie eher ellipsoid. Das Transplantat geht ohne sichtbaren Übergang in den Lagerknochen über. Die einzelnen Fluoreszenzfarbstoffe (Xylenol-Orange, Calcein-Grün und Alizarin-Rot) lassen sich deutlich voneinander unterscheiden.

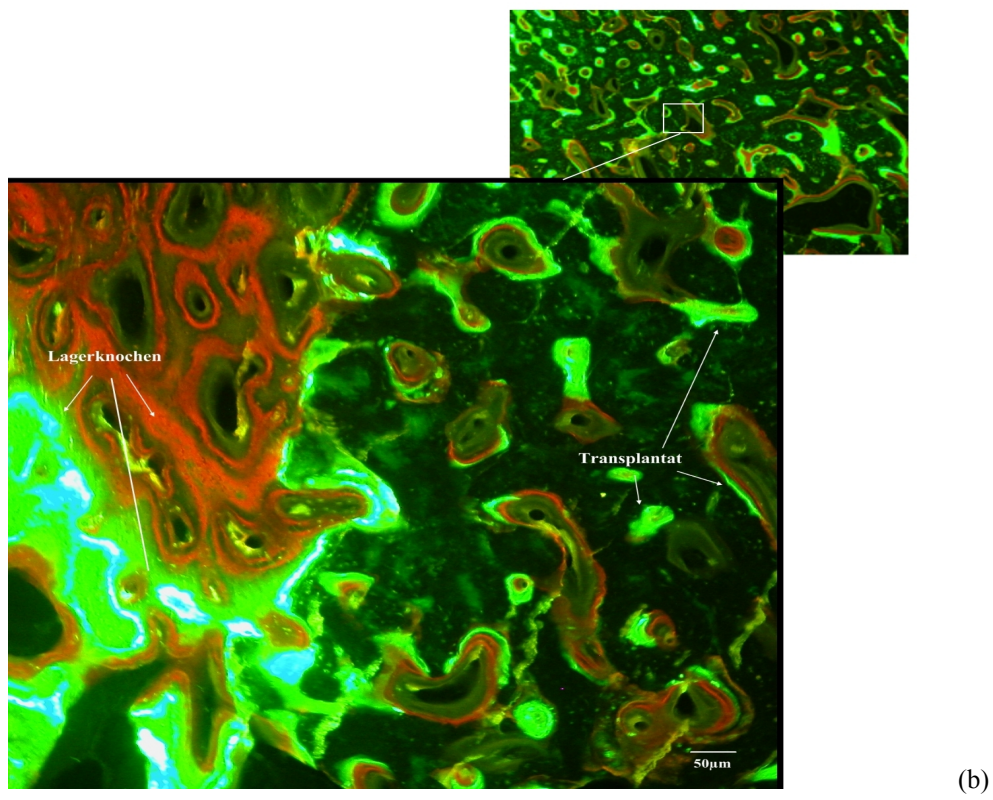
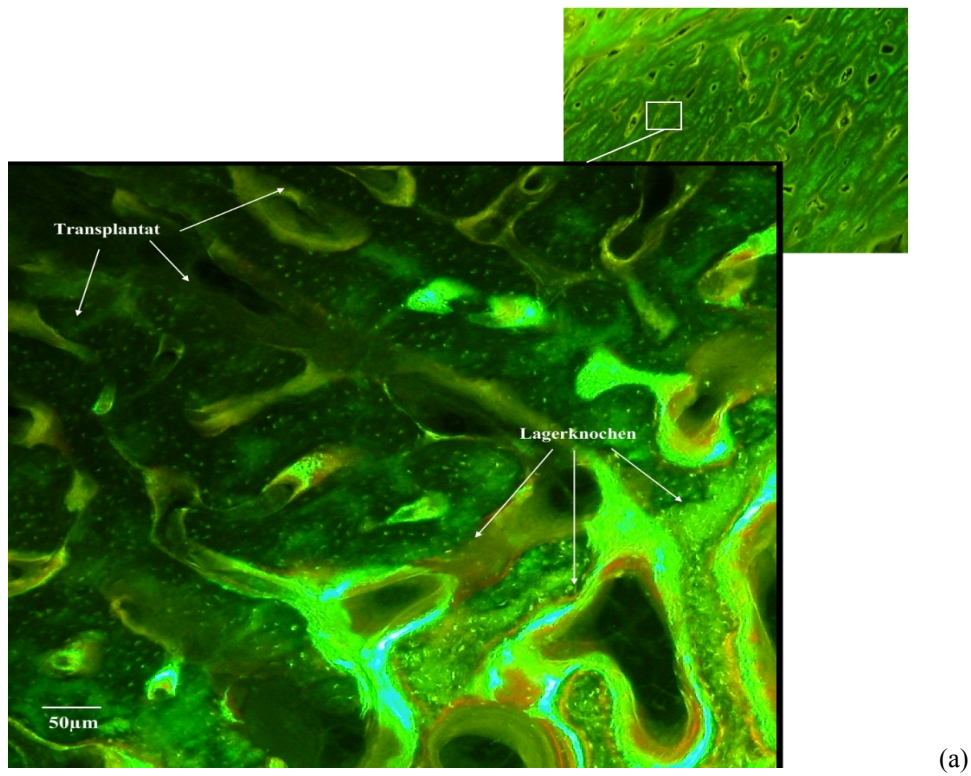


Abbildung 18: vergrößerter Ausschnitt aus dem Transplantat auf Testseite (a) und Kontrollseite (b), die fluoreszierenden und matten Knochenanteile sind eindeutig abgrenzbar; Fluoreszenzmikroskopie

Der Anteil von umgebauten (neu gebildeten) Knochen am Implantat lässt sich aufgrund der fehlenden fluoreszierenden Anteile auf der Testseite nur auf der Kontrollseite messen (Tab. 6). In der statistischen Auswertung konnte im Wilcoxon-Wilcox-Test kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen gefunden werden ($p=0,051$).

Tabelle 6: Umgebauter Knochen am Implantat in Prozent auf der Kontrollseite ohne Bisphosphonat

KONTROLLSEITE	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz
TxMem	15,23	43,58	23,13	9,44	89,06
TxKEM	12,46	31,88	21,29	7,77	60,35
Tx	5,94	46,01	23,03	15,93	253,7
Periost	10,97	37,08	23,49	8,52	72,63

3.3 Knochenremodeling und interner Knochenumbau

Der Knochenumbau kann zunächst auf der Kontrollseite im Vergleich zwischen Transplantat- und Lagerknochen beschrieben werden (Tab. 7).

Tabelle 7: Umgebauter Knochen in % im Transplantat und Lagerknochen

	Mittelwert		
	Transplantat	Lagerknochen	p-Wert
Tx+Membran	16,66	55,11	0,001
Tx+KEM	43,84	27,66	0,001
Tx	4,66	41,49	0,001
Tx+Periost	33,21	52,82	0,004

Auffällig ist hierbei das umgekehrte Verhältnis in der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial: im Transplantat wurde dabei mehr umgebauter Knochen im Vergleich zum Lagerknochen gemessen. Ganz im Gegensatz zu den restlichen Gruppen, die einen höheren Anteil an umgebauten Knochen im Lagerknochen aufweisen. Der Friedman-Test mit multiplen Vergleichen ergab statistisch signifikante Unterschiede zwischen Test- und Kontrollseite ($p \leq 0,05$). Auch im Wilcoxon-Wilcox-Test konnten in den paarweisen Vergleichen statistisch höchst signifikante Unterschiede ermittelt werden.

Für die Ermittlung der Umbaugeschwindigkeiten konnten die Abstände der einzelnen Farbbanden wiederum nur auf der Kontrollseite gemessen werden (Abb. 20). Einzig in der Gruppe Transplantat mit Bisphosphonat ließen sich auf der Testseite im Zeitraum 28.-35. Tag geringe (0,255%) fluoreszierende Anteile nachweisen.

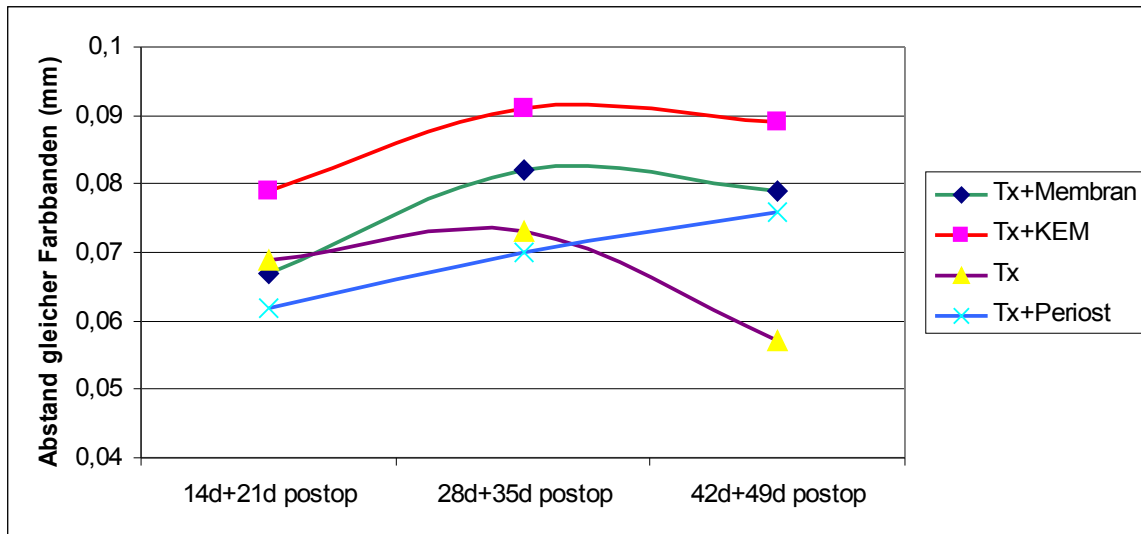


Abbildung 19: Umbaugeschwindigkeit auf der Kontrollseite: auf der Abszisse die Zeitpunkte der Sequenzmarkierungen, auf der Ordinate die Abstände der Farbbanden in mm. Diese sagen aus, wie hoch die Umbaurate des Knochens zwischen der Gabe gleicher fluoreszenter Farbstoffe gewesen ist.

Die Umbaugeschwindigkeit verlief in der Membrangruppe und der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial konstant. Eine leichte Verminderung der Geschwindigkeit trat um die 4. Woche auf. In der Gruppe ohne spezielle Hilfsmittel fiel die Geschwindigkeit deutlich zum Ende des Versuchs ab. In der Periost-Gruppe konnte eine konstante Erhöhung gemessen werden.

Um ein Maß für das Knochenremodeling am Implantat zu haben, wurde der prozentuale Anteil an den einzelnen Fluoreszenzfarbstoffen direkt am Implantat gemessen. Wie in Abb. 21 zu erkennen, stieg um die vierte Woche der Knochenumbau bei allen Gruppen an.

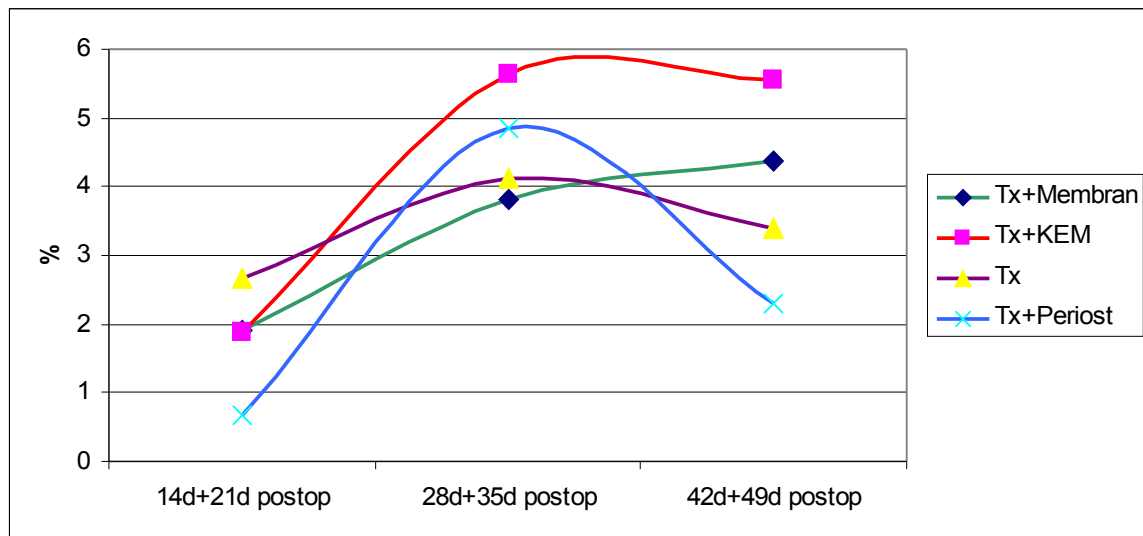


Abbildung 20: Kontrollseite - Umgebauter Knochen in Prozent im Transplantat: auf der Abszisse die Zeitpunkte der Sequenzmarkierungen, auf der Ordinate der entsprechende Anteil fluoreszierenden Knochens in %.

Der größte Umbau fand in der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial statt. In dieser und auch in der Membran-Gruppe blieb das Ausmaß des Umbaus bis zum Ende des Versuchs konstant, in der Gruppe ohne spezielle Hilfsmittel bzw. mit Periostabdeckung kam es dagegen zu einem Abfall zum 49. Tag.

4 Diskussion

Die vorliegende Studie prüft die Hypothese, dass eine Kombination von lokal aufgetragenen Bisphosphonaten (Alendronat, Fosamax®) auf verschiedenen Trägermaterialien (Bio-Gide® Kollagenmembran, Bio-Oss® Granulat) einen Schutz vor vorzeitiger Oberflächenresorption von Knochentransplantaten bei Kieferkammaugmentation bietet. Damit verglichen wurden konventionelle Methoden (Transplantat mit Bio-Gide® Kollagenmembran bzw. Bio-Oss® Granulat sowie ein Transplantat mit Periostabdeckung bzw. ohne spezielle Hilfsmittel) des Resorptionsschutzes. Der operative Eingriff fand in einer Tierstudie am Unterkiefer von Hausschweinen statt.

Um die Aussagekraft der Studie weiter zu erhöhen, wäre eine höhere Anzahl der Tiere vonnöten gewesen. Auch die statistischen Aussagen sind nur unter Vorbehalt auswertbar, da aufgrund der geringen Anzahl der Messungen der Friedman-Test sowie die paarweisen Vergleiche nach Wilcoxon und Wilcox keine sichere Interpretation zulassen.

Das Operationsfeld am Unterkiefer bzw. Unterkieferwinkel war gut zu erreichen und ausreichend groß. Aufgrund der möglichen Diffusion des auf der Testseite platzierten Bisphosphonats kann ein etwaiger Einfluss auf die Kontrollseite nicht ausgeschlossen werden. Hier muss zunächst die Frage diskutiert werden, ob Bisphosphonate in den Lagerknochen oder als „Mantel“ um das Transplantat herum wirken. Die Einheilung und das Remodeling des Transplantates sowie die Rekrutierung der Osteoklasten beginnt sofort nach dem operativen Eingriff.⁽⁸⁶⁾ Da Bisphosphonate irreversibel am Knochen binden, ändert sich die Konzentration während der Einheilungszeit im Knochen nur minimal.⁽²⁵⁾ Dies deutet auf eine lokale Persistenz des Medikaments, also auf eine eher geringe Diffusion ins Lagergewebe hin. Zusätzlich können die eindeutigen Ergebnisse der vorliegenden Studie eine signifikante Diffusion des Bisphosphonats auf die Kontrollseite ausschließen.

In der vorliegenden Studie konnte die unerwünschte Oberflächenresorption durch lokal eingesetzte Bisphosphonate gehemmt werden. Bisphosphonate wurden bereits in vielen Studien (7; 79; 80; 82; 87–90) zur Hemmung der Knochenresorption eingesetzt. Besonders in der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial konnte ein signifikanter Unterschied zur Kontrollseite festgestellt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit der Studie von Houshmand et al. (2007)⁽⁸⁷⁾ überein, die ebenfalls einen höheren Knochenumbau in der Kombination von Bio-Oss® und Bisphosphonat im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Bisphosphonat

nachweisen konnten. Es fanden sich in ihrer Studie auch deutlich weniger Osteoklasten auf der Testseite, was mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie übereinstimmt.

Auffällig war der bereits makroskopisch erkennbare Unterschied zwischen Test- und Kontrollseite. Auf der Testseite war die ursprünglich eckige Form des Transplantates umgeben von Bindegewebe zu erkennen; sie wurde von einer nekrotischen Zone im unteren Bereich vom Lagerknochen getrennt. Diese Zone kann nur durch vitale Zellen aus dem Lagerknochen gebildet worden sein. Ein ähnliches Bild beschreiben auch Aspenberg und Astrand (2002)(7): Nach lokaler Applikation von Bisphosphonaten fanden sie ebenfalls fast völlig intakte Transplantate, die von Weichgewebe umwachsen waren. Auf der Kontrollseite waren die Transplantate wie auch in der vorliegenden Studie zur Hälfte resorbiert. Interessant ist auch, dass Aspenberg und Astrand (2002)(7) ebenfalls bereits makroskopisch den Unterschied in der Knochendichte beobachten konnten. Auch in der vorliegenden Studie war auf der Kontrollseite eine dichtere Knochenstruktur des Transplantates zu erkennen, was auf eine *creeping substitution* hinweist.(89; 91)

Die Osseointegration des Implantats war auf der Testseite in den Gruppen Transplantat, Kollagenmembran und Bisphosphonat bzw. Transplantat und Bisphosphonat doppelt so groß wie auf der Kontrollseite. Dieses Ergebnis lässt sich mit der Spannung beim Applizieren der Osteosyntheseschrauben erklären: Im vitalen Knochen auf der Kontrollseite führte jene zum Umbau, im devitalen Knochen der Testseite blieb der Kontakt des Implantats zum Transplantat wie zum Zeitpunkt der Operation bestehen. Ein ähnliches Ergebnis fand sich auch bei Meraw et al. (1999)(24) in ihrer Tierstudie von mit Bisphosphonat beschichteten Titan- bzw. Hydroxylapatit-Implantaten. Der Knochen-Titan-Implantat-Kontakt betrug dabei durchschnittlich 59,4 % mit und 30 % ohne Bisphosphonat. Der höhere Prozentsatz im Vergleich zur vorliegenden Studie kann mit unterschiedlichen Applikationsformen des Medikaments erklärt werden. Interessant ist das umgekehrte Verhältnis in den Gruppen Transplantat und Knochenersatzmaterial mit bzw. ohne Bisphosphonat; hier war die Osseointegration doppelt so hoch wie auf der Kontrollseite. Dasselbe Ergebnis fand sich auch bei Meraw et al. (1999)(24) bei mit Hydroxylapatit beschichteten Implantaten. Sie beschreiben diese Beobachtung als einen „negativen Effekt des Alendronats“ und erklären es mit dem noch nicht völlig ausgereiften Versuchsaufbau.

Da Knochenumbau nur auf der Kontrollseite stattfand, konnte der Effekt des Bisphosphonats auf das Knochenremodeling nicht untersucht werden. Die Ergebnisse der Kontrollseite zum

Knochenumbau stimmen mit den Ergebnissen von Houshmand et al. (2007)(87) überein. Das in der vorliegenden Studie auf der Testseite zwar nur geringe Knochenresorption, aber auch kein Knochenumbau beobachtet wurde, liegt der Schluss nahe, dass die benutzte Konzentration des Bisphosphonats zu hoch war. Gemäß verschiedener Studien (25; 27; 92) wurde eine für die Osteoblasten unbedenkliche Konzentration von 0,05 mg festgelegt; auf Osteoklasten wurde kein Einfluss festgestellt. In diesen Studien stand allerdings die Integration eines Tantal- bzw. Titan-Implantats, nicht die Knochenresorption eines Transplantates im Vordergrund.

Werden alle Ergebnisse berücksichtigt (keine fluoreszenten Anteile, Nekrosen auf der Unterseite, keine nachweisbaren Resorptionslakunen, um- und eingewachsenes Bindegewebe), müssen die Transplantate auf der Testseite als devital charakterisiert und die Ergebnisse als Gesamtbild der Bisphosphonat-assoziierten Osteochemonekrose diskutiert werden. Knochennekrosen sind klinisch durch einen chronisch freiliegenden Knochen bis zur Suppuration und Sequesterbildung charakterisiert. Diese Läsionen sind ausgesprochen unempfindlich gegen eine Behandlung und müssen intensiv antibiotisch und chirurgisch versorgt werden.(93; 94) In der vorliegenden Studie wurden nicht nur makroskopisch Anzeichen für Knochennekrosen gefunden. Auch mikroskopisch konnten auf der Testseite Nekrosen am Transplantatboden beobachtet werden. Zur Entstehung einer Knochennekrose gibt es verschiedene Hypothesen, wobei man von einem multifaktorellen Geschehen ausgehen muss, das ähnlich einer Osteoradionekrose abläuft.(95) Als Sonderform der Osteomyelitis zeichnet sich die Osteoradionekrose durch devaskularisierten, strahlengeschädigten Knochen aus, der aufgrund der herabgesetzten Immunreaktion einer höheren Infektionsgefahr ausgesetzt ist.(96) Marx (1983)(97; 98) beschrieb das sogenannte „3-H-Gewebe“ (Hypoxie, Hypovaskularität, Hypozellularität) als Pathogenese einer Osteoradionekrose. In der folgenden Tabelle (Tab. 8) werden die Ergebnisse dieser Studie der von Marx gegenüber gestellt.

Tabelle 8: Gegenüberstellung Osteoradionekrose – Bisphosphonat-assoziierte Osteochemonekrose

Marx (Pathogenese einer Osteoradionekrose)	Ergebnisse der vorliegenden Studie (Bisphosphonat-assoziierte Osteochemonekrose)
Bestrahlung	Einsatz von Bisphosphonaten als exogener Einfluss
hypoxische-hypovaskuläre- hypozelluläre Verhältnisse im Gewebe	„3-H-Gewebe“ durch ausbleibende Neo- angiogenese und darauf folgende Hypoxie und fehlende Einwanderung von Zellen in das Transplantat
Beschädigung des Gewebes	Schädigung durch den chirurgischen Eingriff
chronische nichtheilende Wunde	Infektion nach dem Eingriff bzw. die Akute- Phase-Reaktion ausgelöst durch die Bisphos- phonate (59; 60; 62)

Dem antiangiogenetischen Effekt der Bisphosphonate wird in vielen Studien eine hohe Bedeutung beigemessen, da eine ausbleibende oder verminderte Neoangiogenese einen hemmenden Effekt auf die ordnungsgemäße Neubildung des Knochens hat.(50; 72; 74–77; 99–101)

Das auf der Testseite weder eine *creeping substitution* noch eine Transplantateinheilung beobachtet werden konnte, liegt der Schluss nahe, dass die Konzentration des Bisphosphonats nicht nur auf die Osteoklasten, sondern auch auf die Osteoblasten toxisch gewirkt haben muss. Die zwei geläufigsten Theorien in der aktuellen wissenschaftlichen Literatur bezüglich der Osteochemonekrose und Bisphosphonate basieren – neben ihrer Wirkung auf Osteoklasten – auf deren Effekte auf Osteoblasten und anti-angiogenischen Eigenschaften.(73; 74; 102) Die ausgeprägtere Senkung der Osteoklasten-Aktivität gegenüber den Osteoblasten führt zu einer positiven Gewebebilanz. In *in-vitro* Studien wurde bereits eine stimulierende Wirkung der Bisphosphonate auf Osteoblasten nachgewiesen, auch wenn der

Wirkmechanismus bisher unklar ist.(102) Bei höheren Konzentrationen werden aber auch Osteoblasten inhibiert, was zu einer Hemmung des Knochenaufbaus führt.(103)

Die meisten bisher veröffentlichten Studien zur Bisphosphonat-assoziierten Osteochemonekrose des Kiefers betrafen Patienten mit malignen Grunderkrankungen (überwiegend Mamma-Ca und Multiples Myelom), die in hoher Dosierung mit hoch potenten i.v. Bisphosphonaten (Pamidronat, Zoledronat) therapiert wurden und ein vorhandenes Risikoprofil aufwiesen (z.B. Zahnextraktionen, Chemotherapie).(66; 68; 69; 74; 76; 104; 105) Abu-Id et al. (50) verglichen 2006 in einer Studie die einzelnen Präparate auf dem Markt, wobei 93 % der Fälle von Osteochemonekrosen mit der Medikation von Pamidronat und Zoledronat assoziiert waren. Diese Medikamente sind für die Behandlung ossärer Komplikationen maligner Erkrankungen zugelassen und erst seit einigen Jahren (1999 bzw. 2002) auf dem Markt. Die Inzidenz von Osteochemonekrosen scheint dabei bei 1-10 % zu liegen.(76; 93)

Bisphosphonate sind potente Medikamente und neben allen metabolischen Knochenerkrankungen mit gesteigerter Osteoklastenaktivität u.a. auch bei der Prophylaxe von Knochenmetastasen bei malignen Grunderkrankungen indiziert. Von allen Nebenwirkungen durch die Bisphosphonate ist die Osteochemonekrose sicherlich eine der bedeutenderen. Noch ist allerdings nicht eindeutig geklärt, wie viele Patienten wirklich gefährdet sind, an einer Osteochemonekrose zu erkranken. Es ist bisher auch nicht möglich, eine definitive Aussage darüber zu machen, mit welchem Bisphosphonat die Osteochemonekrose am meisten auftritt. Aufgrund ihrer nachgewiesenen Effektivität sind Bisphosphonate nicht mehr aus den heutigen Therapieschemata wegzudenken. Daher sollte – neben einer prätherapeutischen intraoralen Sanierung und Antibiotikaprophylaxe – eine engmaschige Kontrolle der mit Bisphosphonaten behandelten Patienten durch den Zahnarzt erfolgen.

Schlussfolgernd muss festgehalten werden, dass das Untersuchungsmodell aufgrund der aufgetretenen Nekrosen nur bedingt geeignet ist. Gleichwohl konnte die zu Beginn formulierte Hypothese angenommen werden. Das Ergebnis der vorliegenden Studie ist klinisch von Bedeutung, vor einer klinischen Anwendung sind aber weitere Studien zur Verbesserung der topischen Applikation und Dosierung der Bisphosphonate erforderlich.

5 Zusammenfassung

Bei Kieferkammaugmentation mit autologen Knochentransplantaten nach Inaktivitätsatrophie oder anders entstandenen Defekten tritt häufig eine nicht vorhersagbare und ästhetisch ungünstige Oberflächenresorption des Knochens auf. Um diese zu hemmen, aber gleichzeitig nicht mit dem internen Knochenremodeling und der Transplantatintegration zu interferieren, wurden in der vorliegenden Tierstudie an Hausschweinen Bisphosphonate (Fosamax®) mittels verschiedener Trägermaterialien als lokaler Resorptionsschutz appliziert. Im Modell einer Kieferkammaugmentation wurden autologe Knochentransplantate mittels Osteosyntheseschrauben an beiden Seiten des Unterkiefers angebracht. Die Transplantate der Testseite wurden mit 1. in Bisphosphonat getränktes bovines Hydroxylapatit-Granulat (BioOss®), 2. mit Bisphosphonat imprägnierte Kollagenmembran (BioGide®) bedeckt und 3. ohne spezielle Hilfsmittel mit Bisphosphonat benetzt. Auf der Kontrollseite wurden die gleichen Gruppen ohne Bisphosphonat getestet mit einem zusätzlichen Transplantat mit periostaler Abdeckung. Die Herstellung der Präparate erfolgte mittels Hartschlifftechnik (Mikroradiographie, Fluoreszenzmikroskopie, Toluidinblaufärbung). Ausgewertet wurde histomorphometrisch und mikroskopisch.

Eine Hemmung der Oberflächenresorption mit Bisphosphonaten konnte nachgewiesen werden. Auf der Kontrollseite betrug sie das Doppelte (in der Membran-Gruppe) bis Dreifache (in der Gruppe mit dem bovinen Knochenersatzmaterial) der Testseite, wobei in der Membran-Gruppe mit Bisphosphonat die geringste Resorption gemessen wurde. Die Osseointegration der Osteosyntheseschrauben war auf der Testseite mit Bisphosphonat trotz devitalem Knochen und nicht erfolgtem Remodeling doppelt so groß wie auf der Kontrollseite. Die Spannung beim Setzen der Osteosyntheseschrauben führte zum Umbau im vitalen Gewebe. Auch der interne Knochenumbau war betroffen: auf der Testseite konnte kein Remodeling nachgewiesen werden, was auf die zu hohe Dosis des Bisphosphonats zurückzuführen ist. Dies wird durch die zahlreichen Bisphosphonat-assoziierten Osteochemonekrosen an der Unterseite der Präparate bestätigt.

Die Hypothese, dass die vorzeitige Resorption von Knochentransplantaten bei Kieferkammaugmentation durch die lokale Anwendung des Bisphosphonats Fosamax® auf verschiedenen Trägermaterialien gehemmt werden würde, konnte angenommen werden. Das Ergebnis ist damit klinisch bedeutsam, die verwendete Dosis ist aber für eine therapeutische

Anwendung zu hoch. Es sind weitere Studien zur Verbesserung der topischen Applikation und Dosierung der Bisphosphonate unabdingbar.

6 Literaturverzeichnis

1. Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Hirsch JM. A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dentomaxillofac Radiol* 2001;30(3):157-61.
2. Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Aberg P, Hirsch JM. Volumetry of simulated bone grafts in the edentulous maxilla by computed tomography: an experimental study. *Dentomaxillofac Radiol* 2001;30(3):153-6.
3. Maiorana C, Beretta M, Salina S, Santoro F. Reduction of autogenous bone graft resorption by means of bio-oss coverage: a prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005 Feb;25(1):19-25.[zitiert 2009 März 1]
4. Li Z, Li Z-B. Repair of mandible defect with tissue engineering bone in rabbits. *ANZ J Surg* 2005 Nov;75(11):1017-21.[zitiert 2009 März 1]
5. Axhausen W. On the biology of bone transplantation. *Zentralblatt fur Chirurgie* 1967;92(26a Pt 1):1152-60.
6. Schlegel A, In Neukam F, Wilfang J, Wichmann M. Regenerative Techniken. Stuttgart: Thieme Verlag; 2007.
7. Aspenberg P, Astrand J. Bone allografts pretreated with a bisphosphonate are not resorbed. *Acta orthop Scand* 2002;73(1):20-3.
8. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67(8):932-49.
9. Reichart PA, Hausamen J-E, Becker J, Neukam FW, Schliephake H, Schmelzeisen R. Curriculum Zahnärztliche Chirurgie. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH; 2002.
10. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res* 2001;12(3):260-9.
11. von Arx T, Buser D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. *Clin Oral Implants Res* 2006 Aug;17(4):359-66.[zitiert 2009 März 1]
12. Schliephake H. Gesteuerte Geweberegeneration in der Implantologie. Wissenschaftliche Stellungnahme DGZMK 2005;
13. Yuri Glass PE. Glossar der Grundbegriffe für die Praxis Knochenersatz- und -aufbaumaterialien. *Parodontologie* 2008;19(4):465-474.

14. Karring T, Isidor F, Nyman S, Lindhe J. New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *J Clin Periodontol* 1985 Jan;12(1):51-60. [zitiert 2009 Feb 3]
15. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1988 Mai;81(5):672-6.[zitiert 2009 Jan 20]
16. Tawil G, El-Ghoule G, Mawla M. Clinical evaluation of a bilayered collagen membrane (Bio-Gide) supported by autografts in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16(6):857-63.
17. Hammerle CH, Jung RE, Yaman D, Lang NP. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(1):19-25.
18. Kasaj A, Reichert C, Gotz H, Rohrig B, Smeets R, Willershausen B. In vitro evaluation of various bioabsorbable and nonresorbable barrier membranes for guided tissue regeneration. *Head Face Med* 2008;4:22.
19. Gielkens PF, Schortinghuis J, de Jong JR, Raghoobar GM, Stegenga B, Bos RR. Vivosorb, Bio-Gide, and Gore-Tex as barrier membranes in rat mandibular defects: an evaluation by microradiography and micro-CT. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(5):516-21.
20. Schlegel KA, Kloss FR, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Wiltfang J. Bone conditioning to enhance implant osseointegration: an experimental study in pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18(4):505-11.
21. Rothamel D, Schwarz F, Sculean A, Herten M, Scherbaum W, Becker J. Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin Oral Implants Res* 2004 Aug;15(4):443-9.[zitiert 2009 Feb 8]
22. Alpar B, Leyhausen G, Günay H, Geurtsen W. Compatibility of resorbable and nonresorbable guided tissue regeneration membranes in cultures of primary human periodontal ligament fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin Oral Investig* 2000 Dez;4(4):219-25.[zitiert 2009 Feb 8]
23. Zitzmann NU, Naef R, Schärer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12(6):844-52.[zitiert 2009 Feb 28]
24. Meraw SJ, Reeve CM, Wollan PC. Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol* 1999 Feb;70(2):151-8.[zitiert 2009 Feb 11]
25. Tanzer M, Karabasz D, Krygier JJ, Cohen R, Bobyn JD. The Otto Aufranc Award: bone augmentation around and within porous implants by local bisphosphonate elution. *Clin Orthop Relat Res* 2005 Dez;441:30-9.[zitiert 2009 Feb 17]

26. Meraw SJ, Reeve CM. Qualitative analysis of peripheral peri-implant bone and influence of alendronate sodium on early bone regeneration. *J Periodontol* 1999 Okt;70(10):1228-33.[zitiert 2009 Feb 11]
27. Tengvall P, Skoglund B, Askendal A, Aspenberg P. Surface immobilized bisphosphonate improves stainless-steel screw fixation in rats. *Biomaterials* 2004 Mai;25(11):2133-8.[zitiert 2009 Feb 17]
28. Skoglund B, Holmertz J, Aspenberg P. Systemic and local ibandronate enhance screw fixation. *J Orthop Res* 2004 Sep;22(5):1108-13.[zitiert 2009 Feb 10]
29. Reginster J-Y, Malaise O, Neuprez A, Jouret V-E, Close P. Intermittent bisphosphonate therapy in postmenopausal osteoporosis: progress to date. *Drugs Aging* 2007;24(5):351-9.[zitiert 2009 Jan 17]
30. Black DM, Thompson DE, Bauer DC, Ensrud K, Musliner T, Hochberg MC, Nevitt MC, Suryawanshi S, Cummings SR. Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: the Fracture Intervention Trial. FIT Research Group. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(11):4118-24.
31. Glorieux FH. Experience with bisphosphonates in osteogenesis imperfecta. *Pediatrics* 2007 März;119 Suppl 2:S163-5.[zitiert 2009 Jan 27]
32. Mawatari T, Miura H, Hamai S, Shuto T, Nakashima Y, Okazaki K, Kinukawa N, Sakai S, Hoffmann PF, Iwamoto Y, Keaveny TM. Vertebral strength changes in rheumatoid arthritis patients treated with alendronate, as assessed by finite element analysis of clinical computed tomography scans: a prospective randomized clinical trial. *Arthritis Rheum* 2008 Nov;58(11):3340-9.[zitiert 2009 Jan 27]
33. Berenson JR. Treatment of hypercalcemia of malignancy with bisphosphonates. *Semin Oncol* 2002;29(6 Suppl 21):12-8.
34. Lipton A. Emerging role of bisphosphonates in the clinic--antitumor activity and prevention of metastasis to bone. *Cancer Treat Rev* 2008;34 Suppl 1:S25-30.
35. Kohno N. Treatment of breast cancer with bone metastasis: bisphosphonate treatment - current and future. *Int J Clin Oncol* 2008;13(1):18-23.
36. Ural AU, Avcu F, Baran Y. Bisphosphonate treatment and radiotherapy in metastatic breast cancer. *Med Oncol* 2008;25(3):350-5.
37. Terpos E, Rahemtulla A. Bisphosphonate treatment for multiple myeloma. *Drugs Today (Barc)* 2004;40(1):29-40.
38. Ichikawa J, Sato E, Haro H, Ando T, Maekawa S, Hamada Y. Successful treatment of SAPHO syndrome with an oral bisphosphonate. *Rheumatol Int* 2008;
39. Hiraga T, Williams PJ, Mundy GR, Yoneda T. The bisphosphonate ibandronate promotes apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells in bone metastases. *Cancer Res* 2001 Juni;61(11):4418-24.[zitiert 2009 Jan 19]

40. Journe F, Kheddoumi N, Chaboteaux C, Duvillier H, Laurent G, Body JJ. Extracellular calcium increases bisphosphonate-induced growth inhibition of breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2008;10(1):R4.
41. Fleisch HA. Die Erfolgsstory einer jungen Wirkstoffklasse: Vom Wasserenthaerter zum Pharmakon. *Pharmazie in unserer Zeit* 2001;30(6):495-499.[zitiert 2009 Jan 23]
42. Carmagnola D, Celestino S, Abati S. Dental and periodontal history of oncologic patients on parenteral bisphosphonates with or without osteonecrosis of the jaws: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008 Dez;106(6):e10-5.[zitiert 2009 März 1]
43. Jeffcoat MK, Cizza G, Shih WJ, Genco R, Lombardi A. Efficacy of bisphosphonates for the control of alveolar bone loss in periodontitis. *J Int Acad Periodontol* 2007 Juli;9(3):70-6.[zitiert 2009 März 1]
44. Palomo L, Liu J, Bissada NF. Skeletal bone diseases impact the periodontium: a review of bisphosphonate therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2007 Feb;8(3):309-15.[zitiert 2009 März 1]
45. Fromm GA, Schajowicz F, Casco C, Ghiringhelli G, Mautalen CA. The treatment of Paget's bone disease with sodium ethidronate. *Am J Med Sci* 1979;277(1):29-37. [zitiert 2009 Jan 20]
46. Ezra A, Golomb G. Administration routes and delivery systems of bisphosphonates for the treatment of bone resorption. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;42(3):175-95.
47. Francis MD, Valent DJ. Historical perspectives on the clinical development of bisphosphonates in the treatment of bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006;7(1):2-8.[zitiert 2009 Jan 21]
48. Fleisch HA. Molekulare Wirkmechanismen der Bisphosphonate: Osteoklasten im Fadenkreuz. *Pharmazie in unserer Zeit* 2001;30(6):500-504.[zitiert 2009 Jan 23]
49. Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88(12):2961-78.
50. Abu-Id MH, Acil Y, Gottschalk J, Kreusch T. [Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2006;10(2):73-81.
51. Suzuki K, Takeyama S, Sakai Y, Yamada S, Shinoda H. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: inhibitory effects of bisphosphonates on the differentiation and activity of osteoclasts. *J Pharmacol Sci* 2006;100(3):189-94.
52. Mayahara M, Sasaki T. Cellular mechanism of inhibition of osteoclastic resorption of bone and calcified cartilage by long-term pamidronate administration in ovariectomized mature rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2003 Sep;274(1):817-26.[zitiert 2009 Jan 21]

53. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 2008 Sep;83(9):1032-45.[zitiert 2009 Jan 19]
54. Kwak HB, Kim JY, Kim KJ, Choi M-K, Kim J-J, Kim KM, Shin Y-I, Lee MS, Kim HS, Kim JW, Chun CH, Cho HJ, Hong GY, Juhng SK, Yoon KH, Park BH, Bae JM, Han J-K, Oh J. Risedronate directly inhibits osteoclast differentiation and inflammatory bone loss. *Biol. Pharm. Bull* 2009 Juli;32(7):1193-1198.[zitiert 2009 Nov 22]
55. Hosfield DJ, Zhang Y, Dougan DR, Broun A, Tari LW, Swanson RV, Finn J. Structural basis for bisphosphonate-mediated inhibition of isoprenoid biosynthesis. *J Biol Chem* 2004 März;279(10):8526-9.[zitiert 2009 Jan 23]
56. Bartl R, Frisch B. *Das Bisphosphonat-Manual*. Blackwell Wissenschaft; 2001.
57. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest* 1996 Juni;97(12):2692-6.[zitiert 2009 Jan 21]
58. Rodan GA, Seedor JG, Balena R. Preclinical pharmacology of alendronate. *Osteoporos Int* 1993;3 Suppl 3:S7-12.[zitiert 2009 Jan 21]
59. Pecherstorfer M, Jilch R, Sauty A, Horn E, Keck AV, Zimmer-Roth I, Thiebaud D. Effect of first treatment with aminobisphosphonates pamidronate and ibandronate on circulating lymphocyte subpopulations. *J Bone Miner Res* 2000 Jan;15(1):147-54. [zitiert 2009 Jan 21]
60. Olson K, Van Poznak C. Significance and impact of bisphosphonate-induced acute phase responses. *J Oncol Pharm Pract* 2007 Dez;13(4):223-9.[zitiert 2009 Jan 21]
61. Coxon FP, Thompson K, Rogers MJ. Recent advances in understanding the mechanism of action of bisphosphonates. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6(3):307-12.
62. Diel IJ, Bergner R, Grötz KA. Adverse effects of bisphosphonates: current issues. *J Support Oncol* 2007;5(10):475-82.[zitiert 2009 Jan 21]
63. Hellstein JW, Marek CL. Bisphosphonate osteochemonecrosis (bis-phossy jaw): is this phossy jaw of the 21st century? *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(5):682-9.
64. Simon. Fifth report of the Medical Officer of the Privy Council, H.M.S.O., London nach einem Report von Dr. Bristowe 1962. 1863;
65. Whalen JP, O'Donohue N, Krook L, Nunez EA. Pathogenesis of abnormal remodeling of bones: effects of yellow phosphorus in the growing rat. *Anat Rec* 1973 Sep;177(1):15-22.[zitiert 2009 Jan 17]
66. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(9):1115-7.
67. Carter GD, Goss AN. Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaws. *Aust Dent J* 2003;48(4):268.

68. Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol* 2003;21(22):4253-4.
69. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(9):1104-7.
70. Schwartz HC. Osteonecrosis and bisphosphonates: correlation versus causation. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(6):763-4.
71. Hellstein JW, Marek CL. Bisphosphonate osteochemonecrosis (bis-phossy jaw): is this phossy jaw of the 21st century? *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(5):682-9.
72. Lugassy G, Shaham R, Nemets A, Ben-Dor D, Nahlieli O. Severe osteomyelitis of the jaw in long-term survivors of multiple myeloma: a new clinical entity. *Am J Med* 2004 Sep;117(6):440-1.[zitiert 2009 Jan 17]
73. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005 Nov;63(11):1567-75.[zitiert 2009 Jan 17]
74. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(5):527-34.
75. Tänzler J, Wilde F, Liese J, Niederwieser D, Al-Ali H. Osteonecrosis of the jaw bone in connection with the application of bisphosphonates. *Onkologie* 2005;28:210.
76. Durie BGM, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med* 2005 Juli;353(1):99-102; discussion 99-102.[zitiert 2009 Jan 17]
77. Novince CM, Ward BB, McCauley LK. Osteonecrosis of the jaw: an update and review of recommendations. *Cells Tissues Organs* 2009;189(1-4):275-83.[zitiert 2009 Jan 17]
78. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009 Jan;67(1):159-61.[zitiert 2009 Jan 17]
79. Binderman I, Adut M, Yaffe A. Effectiveness of local delivery of alendronate in reducing alveolar bone loss following periodontal surgery in rats. *J Periodontol* 2000;71(8):1236-40.
80. Greiner SH, Wildemann B, Back DA, Alidoust M, Schwabe P, Haas NP, Schmidmaier G. Local application of zoledronic acid incorporated in a poly(D,L-lactide)-coated implant accelerates fracture healing in rats. *Acta Orthop* 2008 Okt;79(5):717-25.[zitiert 2009 Jan 23]
81. Huolman R, Ashammakhi N. New multifunctional anti-osteolytic releasing bioabsorbable implant. *J Craniofac Surg* 2007 März;18(2):295-301.[zitiert 2009 Jan 23]

82. Jakobsen T, Baas J, Kold S, Bechtold JE, Elmengaard B, Soballe K. Local bisphosphonate treatment increases fixation of hydroxyapatite-coated implants inserted with bone compaction. *J Orthop Res* 2009;27(2):189-94.
83. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982 Aug;11(4):318-26.[zitiert 2009 März 8]
84. Friedman M. The Use of Ranks to Avoid the Assumption of Normality Implicit in the Analysis of Variance. *J Amer Stat Assoc* 1937;(32):675-701.
85. Wilcoxon F, Wilcox R. Some rapid approximate statistical procedures. Lederle laboratories, Pearl River, New York 1964;
86. Proussaefs P, Lozada J. The use of intraorally harvested autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation: a human study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 2005;25(4):351-63.
87. Houshmand B, Rahimi H, Ghanavati F, Alisadr A, Eslami B. Boosting effect of bisphosphonates on osteoconductive materials: a histologic in vivo evaluation. *J Periodontal Res* 2007 Apr;42(2):119-23.[zitiert 2009 Feb 10]
88. Astrand J, Aspenberg P. Topical, single dose bisphosphonate treatment reduced bone resorption in a rat model for prosthetic loosening. *J Orthop Res* 2004;22(2):244-9.
89. Tägil M, Astrand J, Westman L, Aspenberg P. Alendronate prevents collapse in mechanically loaded osteochondral grafts: a bone chamber study in rats. *Acta Orthop Scand* 2004 Dez;75(6):756-61.[zitiert 2009 Feb 10]
90. Xue Q, Li H, Zou X, Bunger M, Egund N, Lind M, Christensen FB, Bunger C. The influence of alendronate treatment and bone graft volume on posterior lateral spine fusion in a porcine model. *Spine* 2005;30(10):1116-21.
91. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983 Apr; (174):28-42.[zitiert 2009 Feb 11]
92. Peter B, Pioletti DP, Laib S, Bujoli B, Pilet P, Janvier P, Guicheux J, Zambelli P-Y, Bouler J-M, Gauthier O. Calcium phosphate drug delivery system: influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration. *Bone* 2005 Jan;36(1):52-60. [zitiert 2009 Feb 21]
93. Dunstan CR, Felsenberg D, Seibel MJ. Therapy insight: the risks and benefits of bisphosphonates for the treatment of tumor-induced bone disease. *Nat Clin Pract Oncol* 2007 Jan;4(1):42-55.[zitiert 2009 Jan 31]
94. Grötz KA, Walter C, Küttner C, Al-Nawas B. [Relevance of bisphosphonate long-term therapy in radiation therapy of endosteal jaw metastases]. *Strahlenther Onkol* 2007 Apr;183(4):190-4.[zitiert 2009 Jan 28]

95. Knut A Grötz, Diel IJ. Osteonekrose des Kiefers unter Bisphosphonat-Langzeittherapie. Im Focus Onkologie 2005;
96. AWMF online - Leitlinien Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie: Osteoradionekrose [Internet]. 2008; Available from: <http://www.uni-duesseldorf.de/AWMF/II/007-046.htm>
97. Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. J Oral Maxillofac Surg 1983 Mai;41(5):283-8.[zitiert 2009 Jan 28]
98. Marx RE. A new concept in the treatment of osteoradionecrosis. J Oral Maxillofac Surg 1983 Juni;41(6):351-7.[zitiert 2009 Jan 28]
99. Carey JJ, Palomo L. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: innocent association or significant risk? Cleve Clin J Med 2008 Dez;75(12):871-9.[zitiert 2009 Jan 28]
100. Groetz KA, Al-Nawas B. Persisting alveolar sockets-a radiologic symptom of BP-ONJ? J Oral Maxillofac Surg 2006;64(10):1571-2.
101. Aragon-Ching JB, Dahut WL. Osteonecrosis of the jaw and the use of antiangiogenic agents: just an association? Oncologist 2008 Dez;13(12):1314; author reply 1315. [zitiert 2009 Jan 28]
102. Naidu A, Dechow PC, Spears R, Wright JM, Kessler HP, Opperman LA. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008 Juli;106(1):5-13.[zitiert 2009 Jan 28]
103. Orriss IR, Key ML, Colston KW, Arnett TR. Inhibition of osteoblast function in vitro by aminobisphosphonates. J Cell Biochem 2009 Jan;106(1):109-18.[zitiert 2009 Jan 21]
104. Wang EP, Kaban LB, Strewler GJ, Raje N, Troulis MJ. Incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast or prostate cancer on intravenous bisphosphonate therapy. J Oral Maxillofac Surg 2007;65(7):1328-31.
105. Walter C, Al-Nawas B, Grötz KA, Thomas C, Thüroff JW, Zinser V, Gamm H, Beck J, Wagner W. Prevalence and risk factors of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in prostate cancer patients with advanced disease treated with zoledronate. Eur Urol 2008 Nov;54(5):1066-72.[zitiert 2009 Jan 17]

7 Anhang

7.1 Knochenresorption

Resorptionshöhe auf Test- und Kontrollseite in mm, gemessen vom definierten Punkt am Implantatkopf zur Transplantatoberfläche:

	mm			
TESTSEITE				
Tx,Membran+BP	Tx,KEM+BP	Tx+BP		
	0,03	0,14	0,06	
	0,02	0,1	0,1	
	0,11	0,13	0,19	
	0,12	0,09	0,07	
	0,01	0,11	0,12	
	0,07	0,15	0,09	
	0,11	0,1	0,09	
	0,08	0,11	0,18	
	0,02	0,14	0,13	
	0,11	0,1	0,17	
	0,02	0,16	0,13	
	0,08	0,08	0,07	
		0,12	0,16	
		0,13	0,15	
		0,11	0,24	
	0,09	0,06		
KONTROLLSEITE				
Tx+Membran	Tx+KEM	Tx	Tx mit Periost	
	0,21	0	0,13	0,13
	0	0,25	0,22	0,39
	0,38	1	0,2	1,34
	0,2	0,52	0	0,42
	0,1	0,35	0,2	0,7
	0,13	0,22	0,19	1,2
	0,09	1,1	0,15	0,45
	0,21	0,71	0,14	0,65
	0,2	0,54	0,11	0,8
	0	0,1	0,1	0,48
	0,2	0,35	0,16	0,21
	0,1	0,15	0,2	0,15
		0,2	0,05	1
		0,65	0,16	0,8
		0,3	0,15	0,5
	0,28	0,18	0,45	

Statistische Auswertung zur Resorptionshöhe:

Friedman-Test

Deskriptive Statistiken:

	N	Mittelwert	Stand.Abw.	Minimum	Maximum
Testseite	44	,1057	,04776	,01	,24
Kontrollseite	44	,2473	,23610	,00	1,10

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
Testseite	,0800	,1100	,1300
Kontrollseite	,1150	,2000	,2725

Ränge:

	Mittlerer Rang
Testseite	1,24
Kontrollseite	1,76

Statistik für Friedman-Test:

N	44
Chi-Quadrat	12,302
df	1
Asymptotische Signifikanz	,000
Exakte Signifikanz	,001
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,000

Wilcoxon-Wilcox-Test

Deskriptive Statistik:

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Stand.Abw.
	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik
MemBP	12	,01	,12	,0650	,04253
Mem	12	,00	,38	,1517	,10513
KEMBP	16	,08	,16	,1163	,02335
KEM	16	,00	1,10	,4200	,31337
BP	16	,06	,24	,1256	,05291
Tx	16	,00	,22	,1463	,05886
Periost	16	,13	1,34	,6044	,35414
Gültige Werte (Listenweise)	12				

	Varianz	Schiefe	
	Statistik	Statistik	Standardfehler
MemBP	,002	-,051	,637
Mem	,011	,483	,637
KEMBP	,001	,340	,564
KEM	,098	,974	,564
BP	,003	,540	,564
Tx	,003	-1,187	,564
Periost	,125	,684	,564
Gültige Werte (Listenweise)			

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
MemBP	,0200	,0750	,1100
Mem	,0925	,1650	,2075
KEMB	,1000	,1100	,1400
P			
KEM	,1675	,3500	,6675
BP	,0750	,1100	,1600
Tx	,1150	,1550	,2000
Periost	,2550	,4650	,7750

Ränge:

		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Mem - MemBP	Negative Ränge	3 ^a	3,67	11,00
	Positive Ränge	9 ^b	7,44	67,00
	Bindungen	0 ^c		
	Gesamt	12		
KEM - KEMBP	Negative Ränge	1 ^d	4,00	4,00
	Positive Ränge	14 ^e	8,29	116,00
	Bindungen	1 ^f		
	Gesamt	16		
Tx - BP	Negative Ränge	6 ^g	8,00	48,00
	Positive Ränge	10 ^h	8,80	88,00
	Bindungen	0 ⁱ		
	Gesamt	16		
Periost - Tx	Negative Ränge	1 ^j	1,50	1,50
	Positive Ränge	14 ^k	8,46	118,50
	Bindungen	1 ^l		
	Gesamt	16		

a. Mem < MemBP

b. Mem > MemBP

c. Mem = MemBP

d. KEM < KEMBP

e. KEM > KEMBP

f. KEM = KEMBP

g. Tx < BP

h. Tx > BP

i. Tx = BP

j. Periost < Tx

k. Periost > Tx

l. Periost = Tx

Statistik für Wilcoxon-Test:

	Mem - MemBP	KEM - KEMBP	Tx - BP	Periost - Tx
Z	-2,203 ^a	-3,184 ^a	-1,035 ^a	-3,323 ^a
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,028	,001	,301	,001
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,025	,000	,316	,000
Exakte Signifikanz (1-seitig)	,013	,000	,158	,000
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,002	,000	,006	,000

a. Basiert auf negativen Rängen.

Anzahl der *Resorptionslakunen* im definierten Rahmen auf Test- und Kontrollseite mit Mittelwert, Varianz und Standardabweichung:

	Anzahl			
TESTSEITE	Tx,KEM+BP		Tx+BP	
Tx,Membran+BP	0	0	0	
	0	3	0	
	0	1	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
	0	0	0	
Mittelwert	0	0,36	0	
Varianz	0	0,85	0	
Stand.Abw.	0	0,88	0	
KONTROLLSEITE				
Tx+Membran	14 Tx+KEM	12 Tx	19 Tx+Periost	20
	15	25	21	20
	12	22	17	13
	16	15	14	12
	12	18	19	15
	15	20	21	14
	15	22	16	20
	14	16	14	13
	16	20	15	19
	13	15	20	17
		13	19	16
Mittelwert	14,2	18	17,73	16,27
Varianz	2,18	17,2	7,02	9,62
Stand.Abw.	1,4	3,95	2,53	2,96

7.2 Osseointegration

Maß der Osseointegration des Implantats in Prozent auf Test- und Kontrollseite; gemessen wurde der Kontakt zwischen dem Implantat und Transplantat in %:

TESTSEITE	(%)		(%)		(%)		
Tx,Membran+BP	36,25	Tx,KEM+BP	3,84	Tx+BP	21,5		
	27,05		17,92		50,6		
	25,68		14,8		19,31		
	35,66		16,56		53,38		
	37,21		5,26		22,2		
	20,56		11,6		44,64		
	34,36		5,62		31,56		
	29,9		21,62		19,5		
	25,39		18,56		55,6		
	36,54		4,26		49,2		
	36,09		20,1		37,4		
	28,88		17,52		41,2		
	31,2		11,26		26,47		
	38,26		9,59				
			4,3				
KONTROLLSEITE	(%)		(%)		(%)		(%)
Tx+Membran	5,19	Tx+KEM	59,21	Tx	13,12	Tx mit Periost	33,58
	1,55		3,82		9,99		19,5
	10,77		19,55		7,44		45,6
	48,06		2,63		46,23		30,52
	32,45		40,98		35		40,17
	24,98		23,54		10,56		44,64
	18,56		49,2		5,48		9,67
	14,9		11,68		33,5		15,36
	7,62		52,65		10,55		29,6
	1,35		23,2		21,2		39,9
	11,65		16,96		10,52		16,22
	12,56		36,21		24,15		19,64
	21,56		43,52		19,5		34,6
	18,2		8,56				30,54
			21,22				12,4

Statistische Auswertung zum Maß der Osseointegration:

Friedman-Test

Deskriptive Statistiken:

	N	Mittelwert	Stand.Abw.	Minimum	Maximum
Testseite	42	26,1524	13,88408	3,84	55,60
Kontrollseite	42	21,1802	15,31905	1,35	59,21

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
Testseite	17,2800	25,5350	36,3225
Kontrollseite	10,3875	18,3800	32,7125

Ränge:

	Mittlerer Rang
Testseite	1,67
Kontrollseite	1,33

Statistik für Friedman-Test:

N	42
Chi-Quadrat	4,667
df	1
Asymptotische Signifikanz	,031
Exakte Signifikanz	,044
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,024

Wilcoxon-Wilcox-Test

Deskriptive Statistik:

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Stand.Abw.
	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik
MemBP	14	20,56	38,26	31,6450	5,49636
Mem	14	1,35	48,06	16,3857	12,67686
KEMBP	15	3,84	21,62	12,1873	6,39890
KEM	15	2,63	59,21	27,5287	18,24300
BP	13	19,31	55,60	36,3508	13,65560
Tx	13	5,48	46,23	19,0185	12,53680
Periost	15	9,67	45,60	28,1293	11,91099
Gültige Werte (Listenweise)	13				

	Varianz	Schiefe	
	Statistik	Statistik	Standardfehler
MemBP	30,210	-,591	,597
Mem	160,703	1,217	,597
KEMBP	40,946	-,053	,580
KEM	332,807	,317	,580
BP	186,475	,033	,616
Tx	157,171	1,030	,616
Periost	141,872	-,075	,580
Gültige Werte (Listenweise)			

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
MemBP	26,7075	32,7800	36,3225
KEMBP	5,2600	11,6000	17,9200
BP	21,8500	37,4000	49,9000
Tx	10,2550	13,1200	28,8250
Mem	7,0125	13,7300	22,4150
KEM	11,6800	23,2000	43,5200
Periost	16,2200	30,5200	39,9000

Ränge:

		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Mem - MemBP	Negative Ränge	12 ^a	8,33	100,00
	Positive Ränge	2 ^b	2,50	5,00
	Bindungen	0 ^c		
	Gesamt	14		
KEM - KEMBP	Negative Ränge	5 ^d	4,00	20,00
	Positive Ränge	10 ^e	10,00	100,00
	Bindungen	0 ^f		
	Gesamt	15		
Tx - BP	Negative Ränge	11 ^g	7,27	80,00
	Positive Ränge	2 ^h	5,50	11,00
	Bindungen	0 ⁱ		
	Gesamt	13		
Periost - Tx	Negative Ränge	4 ^j	2,50	10,00
	Positive Ränge	9 ^k	9,00	81,00
	Bindungen	0 ^l		
	Gesamt	13		

a. Mem < MemBP

b. Mem > MemBP

c. Mem = MemBP

d. KEM < KEMBP

e. KEM > KEMBP

f. KEM = KEMBP

g. Tx < BP

h. Tx > BP

i. Tx = BP

j. Periost < Tx

k. Periost > Tx

l. Periost = Tx

li.

Statistik für Wilcoxon-Test:

	Mem - MemBP	KEM - KEMBP	Tx - BP	Periost - Tx
Z	-2,982 ^a	-2,272 ^b	-2,411 ^a	-2,481 ^b
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,003	,023	,016	,013
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,001	,022	,013	,010
Exakte Signifikanz (1-seitig)	,001	,011	,007	,005
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,000	,002	,001	,001

a. Basiert auf positiven Rängen.

b. Basiert auf negativen Rängen.

7.3 Knochenremodeling

Umgebauter Knochen in Prozent auf Test- und Kontrollseite; gemessen wurde in definierten Rahmen die Fläche am entsprechenden fluoreszierendem Farbstoff:

TESTSEITE	14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop	KONTROLLSEITE	14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop
Tx,Membran+BP	0	0	0	Tx+Membran	1,54	2,67	3,55
	0	0	0		2,28	4,96	5,18
	0	0	0		1,91	3,59	4,47
	0	0	0		2,13	4,2	5,58
	0	0	0		1,48	2,68	3,97
	0	0	0		2	3,13	4,65
	0	0	0		1,55	4,89	5,1
	0	0	0		1,69	5,1	3,15
	0	0	0		2,21	3,64	4,65
	0	0	0		2,35	3,29	3,35
Mittelwert	0	0	0	Mittelwert	1,91	3,82	4,37
Varianz	0	0	0	Varianz	0,11	0,85	0,69
Stand.Abw.	0	0	0	Stand.Abw.	0,31	0,88	0,79
Tx, KEM+BP	0	0	0	Tx+KEM	2,07	5,94	5,24
	0	0	0		1,67	5,35	5,85
	0	0	0		1,99	5,61	5,21
	0	0	0		2,21	5,24	6,08
	0	0	0		2,24	6,21	5,2
	0	0	0		2,17	5,3	5,44
	0	0	0		1,33	5,71	5,76
	0	0	0		1,47	4,88	5,65
	0	0	0		2,12	5,98	4,95
	0	0	0		1,93	6,02	5,67
	0	0	0		1,41	5,89	5,98
Mittelwert	0	0	0	Mittelwert	1,87	5,65	5,55
Varianz	0	0	0	Varianz	0,12	0,18	0,14
Stand.Abw.	0	0	0	Stand.Abw.	0,34	0,4	0,35
Tx+BP	0	0	0	Tx	4,31	5,46	3,69
	0	0,51	0		1,02	2,78	3,09
	0	0	0		3,31	3,54	3,45
	0	0	0		1,25	5,61	3,3
	0	0	0		1,3	4,55	3,97
	0	0	0		3,14	5,12	3,79
	0	0	0		2,4	2,09	2,7
	0	0,69	0		1,48	3,48	3,49
	0	0,79	0		5,2	4,42	2,54
	0	0,56	0		3,4	4,75	4,02
	0	0,3	0		2,56	3,48	3,2
Mittelwert	0	0,26	0	Mittelwert	2,67	4,12	3,39
Varianz	0	0,11	0	Varianz	1,71	1,2	0,25
Stand.Abw.	0	0,31	0	Stand.Abw.	1,24	1,04	0,47
				Tx mit Periost	0,3	5,05	2,01
					1,06	4,64	2,59
					1,02	4,66	2,6
					0,79	5,4	2,45
					0,65	5,16	1,6
					1,6	4,96	2,31
					0,21	5,03	2,89
					0,26	4,5	2,01
					0,82	3,93	2,44
					0,26	5,12	2,1
				Mittelwert	0,88	4,16	1,92
				Varianz	0,21	0,18	0,14
				Stand.Abw.	0,43	0,4	0,36

Umbaugeschwindigkeit auf der Kontrollseite; gemessen wurde der Abstand gleicher fluoreszierender Farbbanden in mm:

KONTROLLSEITE	14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop		14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop
Tx+Membran	0,05	0,04	0,06	Tx+KEM	0,1	0,09	0,07
	0,05	0,08	0,13		0,09	0,09	0,09
	0,08	0,1	0,07		0,09	0,12	0,1
	0,05	0,08	0,03		0,05	0,07	0,09
	0,09	0,07	0,06		0,08	0,07	0,09
	0,08	0,1	0,06		0,06	0,09	0,09
	0,07	0,08	0,08		0,09	0,09	0,08
	0,07	0,08	0,12		0,1	0,1	0,1
	0,05	0,09	0,1		0,04	0,09	0,09
	0,08	0,1	0,08		0,09	0,1	0,09
Mittelwert	0,07	0,08	0,08		0,08	0,09	0,09
Varianz	0	0	0		0	0	0
Stand.Abw.	0,02	0,02	0,03		0,02	0,01	0,01
Minimum	0,05	0,04	0,03		0,04	0,07	0,07
Maximum	0,09	0,1	0,13		0,1	0,12	0,1
1.Quartile	0,05	0,08	0,06		0,07	0,09	0,09
3. Quartile	0,08	0,1	0,1		0,09	0,1	0,09
CV(%)	23,43	22,07	38,35		26,96	15,93	9,89
Median	0,07	0,08	0,08		0,09	0,09	0,09
	14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop		14d+21d postop	28d+35d postop	42d+49d postop
Tx	0,05	0,06	0,05	Tx+Periost	0,05	0,06	0,08
	0,08	0,08	0,08		0,03	0,06	0,06
	0,07	0,09	0,05		0,07	0,07	0,06
	0,1	0,06	0,06		0,05	0,04	0,07
	0,07	0,1	0,03		0,06	0,05	0,05
	0,04	0,03	0,05		0,04	0,06	0,12
	0,04	0,08	0,08		0,06	0,09	0,12
	0,08	0,07	0,07		0,08	0,09	0,04
	0,07	0,08	0,04		0,1	0,07	0,08
	0,09	0,08	0,06		0,08	0,11	0,08
Mittelwert	0,07	0,07	0,06		0,06	0,07	0,08
Varianz	0	0	0		0	0	0
Stand.Abw.	0,02	0,02	0,02		0,02	0,02	0,03
Minimum	0,04	0,03	0,03		0,03	0,04	0,04
Maximum	0,1	0,1	0,08		0,1	0,11	0,12
1.Quartile	0,06	0,06	0,05		0,05	0,06	0,06
3. Quartile	0,08	0,08	0,07		0,08	0,09	0,08
CV(%)	29,28	26,71	28,77		33,87	30,14	35,13
Median	0,07	0,08	0,06		0,06	0,07	0,08

Umgebauter Knochen im Transplantat in Prozent auf der Kontrollseite; gemessen wurde die Fläche von fluoreszierendem Knochen:

	(%)	Mittelwert	Varianz	Stand.Abw.	Minimum Maximum	1. Quartil 3. Quartil	CV(%)	Median
Tx+Membran	16,57	23,13	89,06	9,44	15,23 43,58	16,48 25,96	40,81	20,63
	15,23							
	23,86							
	16,19							
	17,39							
	26,45							
	43,58							
	25,8							
Tx+KEM	12,46	21,29	60,35	7,77	12,46 31,88	12,95 27,21	36,5	22,39
	23,83							
	28,72							
	31,88							
	26,7							
	13,01							
	20,95							
	12,76							
Tx	23,57	23,03	253,7	15,93	5,94 46,01	8,95 36,33	69,17	19,34
	46,01							
	41,7							
	34,54							
	5,94							
	9,2							
	8,19							
	15,1							
Tx+Periost	29,75	23,49	72,63	8,52	10,97 37,08	18,16 30,09	36,27	21,49
	22,4							
	17,75							
	31,12							
	18,3							
	10,97							
	20,58							
	37,08							

Umgebauter Knochen im Transplantat und im Lagerknochen; gemessen wurde die Berührungsfläche des Implantats zum Knochen in mm, daraus wurde die prozentuale Fläche errechnet:

	Transplantat		Lagerknochen	
	Länge S (mm)	Länge Tx (mm)	Länge S (mm)	Länge K (mm)
Tx+Membran	4,61	0,87	4,36	2,53
	5,28	0,8	6,12	3,38
	5,21	0,79	4,2	2,62
	5,31	0,8	4,6	2,66
	4,7	0,82	4,5	2,1
	4,6	0,79	4,3	2,2
	5,2	0,85	5,43	3,07
	5,1	0,82	6,21	3,39
	4,21	0,8	5,47	3,21
	4,6	0,75	6,62	3,31
Tx+KEM	5,77	2,42	2,83	0,6
	3,56	1,02	4,12	1,51
	3,95	1,59	3,41	0,84
	3,98	1,85	3,45	0,97
	4,44	2,06	4,01	1,41
	4,59	2,16	4,2	1,05
	5,3	2,21	4,17	1,3
	3,02	1,91	3,85	0,94
	5,87	2,64	3,57	0,86
	4,08	1,54	4,09	1,07
Tx	3,44	0,21	4,21	1,84
	3,85	0,18	3,86	1,59
	3,66	0,15	4,16	1,8
	3,41	0,13	3,94	1,66
	4,01	0,2	3,64	1,47
	3,99	0,16	3,57	1,39
	3,54	0,17	3,94	1,54
	3,78	0,16	4,17	1,63
	3,95	0,21	3,9	1,85
	3,54	0,16	4,08	1,62
Tx+Periost	4,45	2,69	4,91	3,19
	4,4	0,38	4,31	1,88
	4,41	2,29	4,41	2,84
	4,43	2,59	4,35	1,75
	4,32	0,59	4,8	2,5
	4,48	1,2	4,76	2,69
	4,65	1,64	4,54	1,76
	4,78	2,01	4,13	1,67
	4,69	0,97	4,23	3,09
	4,5	0,64	4,58	2,48

Statistische Auswertung zum umgebauten Knochen im Transplantat und Lagerknochen:

Friedman-Test

Deskriptive Statistiken:

	N	Mittelwert	Stand.Abw.	Minimum	Maximum
Transplantat	40	,2460	,18345	,04	,63
Lagerknochen	40	,4427	,12944	,21	,73

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
Transplantat	,0673	,1730	,4185
Lagerknochen	,3722	,4270	,5505

Ränge:

	Mittlerer Rang
Transplantat	1,27
Lagerknochen	1,73

Statistik für Friedman-Test:

N	40
Chi-Quadrat	8,100
df	1
Asymptotische Signifikanz	,004
Exakte Signifikanz	,006
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,004

Wilcoxon-Wilcox-Test

Deskriptive Statistik:

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Stand.Abw.
	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik	Statistik
MemT	10	,151	,190	,16670	,014376
MemL	10	,467	,624	,55110	,046661
KEMT	10	,287	,632	,43850	,087446
KEML	10	,212	,367	,27670	,051088
TxT	10	,038	,061	,04650	,006948
TxL	10	,389	,474	,41490	,027094
PerT	10	,086	,604	,33220	,193128
PerL	10	,388	,730	,52810	,120207
Gültige Werte (Listenweise)	10				

	Varianz	Schiefe	
	Statistik	Statistik	Standardfehler
MemT	,000	,644	,687
MemL	,002	-,421	,687
KEMT	,008	,736	,687
KEML	,003	,838	,687
TxT	,000	,919	,687
TxL	,001	1,199	,687
PerT	,037	,231	,687
PerL	,014	,336	,687
Gültige Werte (Listenweise)			

Perzentile:

	25.	50. (Median)	75.
MemT	,15200	,16300	,17775
KEMT	,39650	,43450	,46650
TxT	,04075	,04600	,05075
PerT	,14075	,31050	,53550
MemL	,50900	,55850	,58175
KEML	,24325	,25600	,32200
TxL	,39100	,40800	,43400
PerL	,40350	,53100	,64550

Ränge:

		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
MemL - MemT	Negative Ränge	0 ^a	,00	,00
	Positive Ränge	10 ^b	5,50	55,00
	Bindungen	0 ^c		
	Gesamt	10		
KEML - KEMT	Negative Ränge	9 ^d	6,00	54,00
	Positive Ränge	1 ^e	1,00	1,00
	Bindungen	0 ^f		
	Gesamt	10		
TxL - TxT	Negative Ränge	0 ^g	,00	,00
	Positive Ränge	10 ^h	5,50	55,00
	Bindungen	0 ⁱ		
	Gesamt	10		
PerL - PerT	Negative Ränge	2 ^j	3,00	6,00
	Positive Ränge	8 ^k	6,13	49,00
	Bindungen	0 ^l		
	Gesamt	10		

a. MemL < MemT

b. MemL > MemT

c. MemL = MemT

d. KEML < KEMT

e. KEML > KEMT

f. KEML = KEMT

g. TxL < TxT

h. TxL > TxT

i. TxL = TxT

j. PerL < PerT

k. PerL > PerT

l. PerL = PerT

Statistik für Wilcoxon-Test:

	MemL - MemT	KEML - KEMT	TxL - TxT	PerL - PerT
Z	-2,803 ^a	-2,701 ^b	-2,805 ^a	-2,191 ^a
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,005	,007	,005	,028
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,002	,004	,002	,027
Exakte Signifikanz (1-seitig)	,001	,002	,001	,014
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,001	,001	,001	,004

a. Basiert auf negativen Rängen.

b. Basiert auf positiven Rängen.

8 Danksagung

Dankbar bin ich all jenen, die mir bei der Durchführung der Dissertation behilflich waren.

Ein großer Dank geht an Prof. Dr. med. Dr. med. dent. J. Wiltfang, Direktor der Klinik für Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie im Universitätsklinikum Kiel für die Möglichkeit der Durchführung dieser Doktorarbeit und die jederzeit freundliche Beratung.

Im Besonderen bedanke ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. H. Terheyden für die Bereitstellung des interessanten Themas, die zur Verfügung gestellten Arbeitsmittel und seinen fortwährenden Beistand.

Mein außerordentlicher Dank gilt Dr. B. Möller für die engagierte und wertvolle Unterstützung meiner Arbeit in allen theoretischen und praktischen Fragen, das geduldige und produktive Korrekturlesen sowie seine versierten Lösungsvorschläge in strukturellen und inhaltlichen Belangen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. rer. nat. Y. Açil und seinen Mitarbeitern, besonders MTA Frau G. Neßenius für die lehrreiche Zeit im Labor, die freundliche Arbeitsatmosphäre und für erfahrene Ratschläge bei labortechnischen und allgemeinen Fragestellungen.

Mein Dank gilt meiner Familie und meinem Mann für ihre grenzenlose moralische und praktische Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den verwendeten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe, Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: